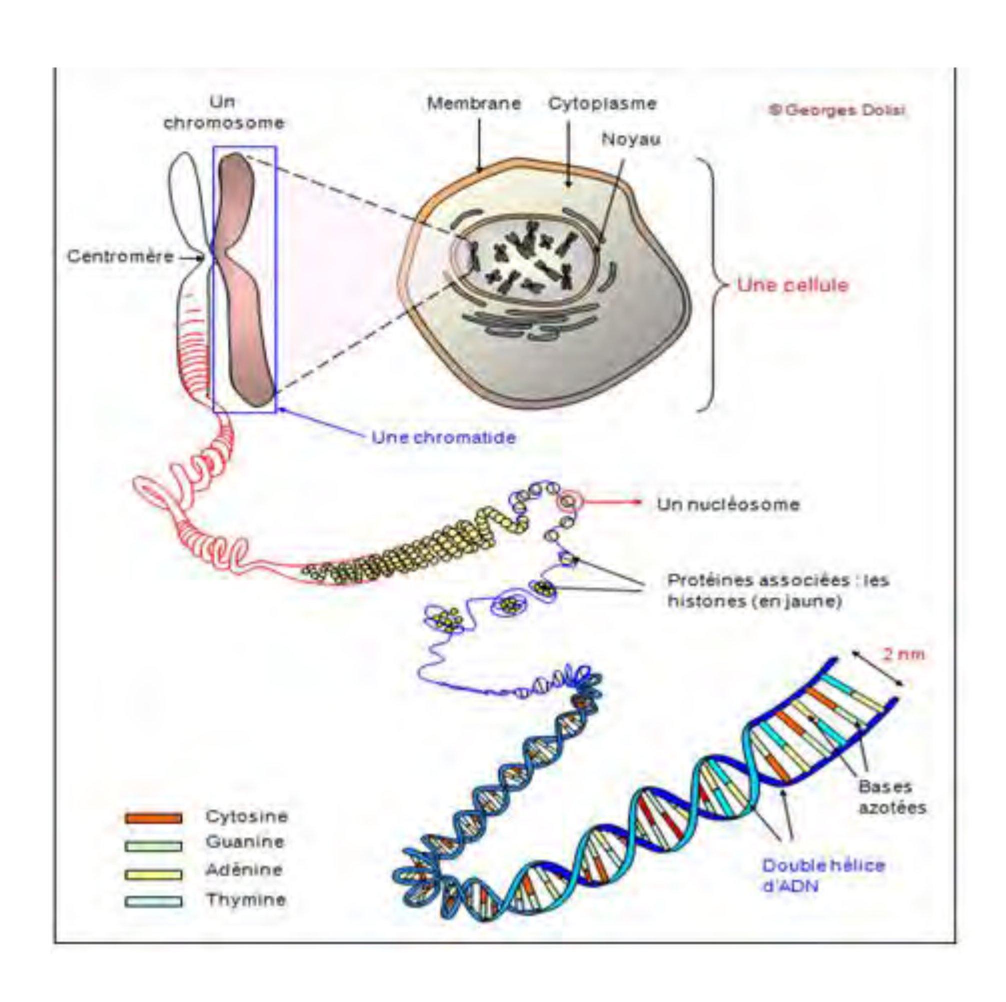
LE NOYAU INTERPHASIQUE ET LE CYCLE CELLULAIRE

A / LE NOYAU INTERPHASIQUE

DEFINITION

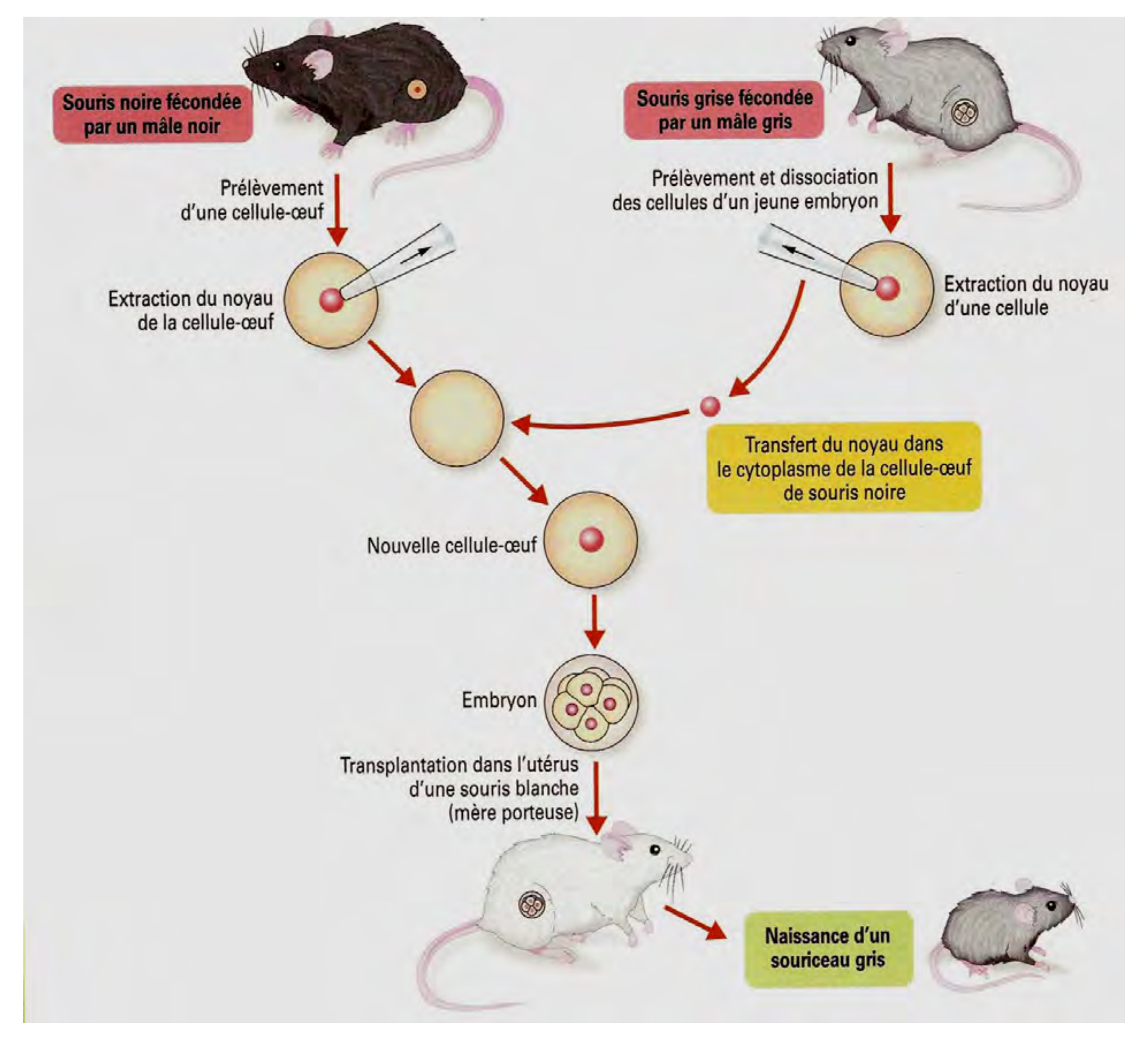
Le noyau correspond au compartiment cellulaire renfermant le matériel génétique (ADN).



ROLE

Il contrôle l'ensemble des activités de la cellule.

Le noyau est le centre de commande de la cellule.

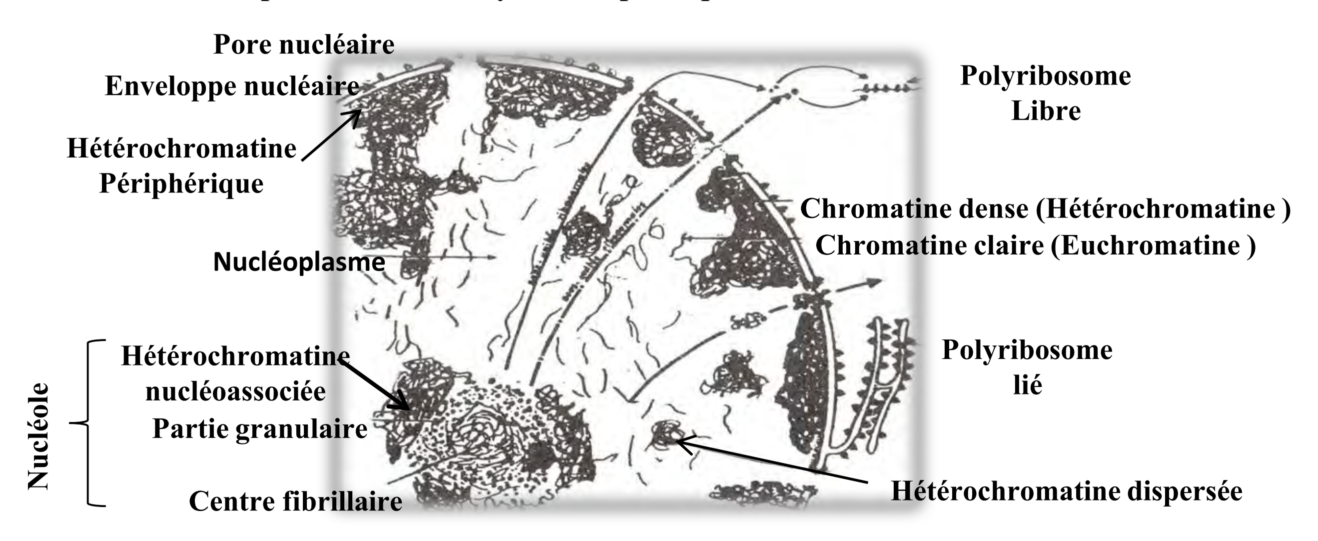


SUPPORTS PEDAGOGIQUES

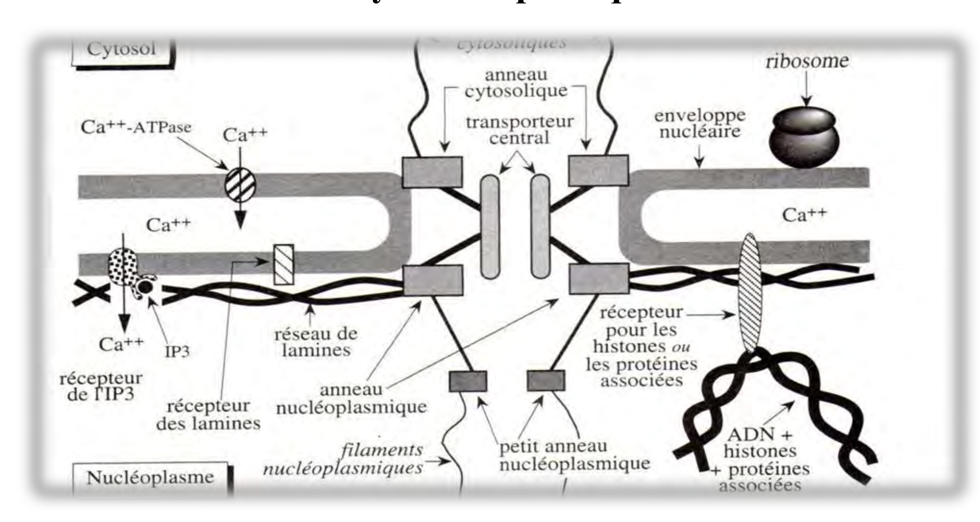
.Illustrations des pages : 28,29,30, 31,32 et 38 du fascicule 3 de Cytologie & Physiologie cellulaire

. 6 nouvelles planches

Chapitre VIII : Le noyau interphasique : La chromatine



Aspect ultrastructural du noyau interphasique.

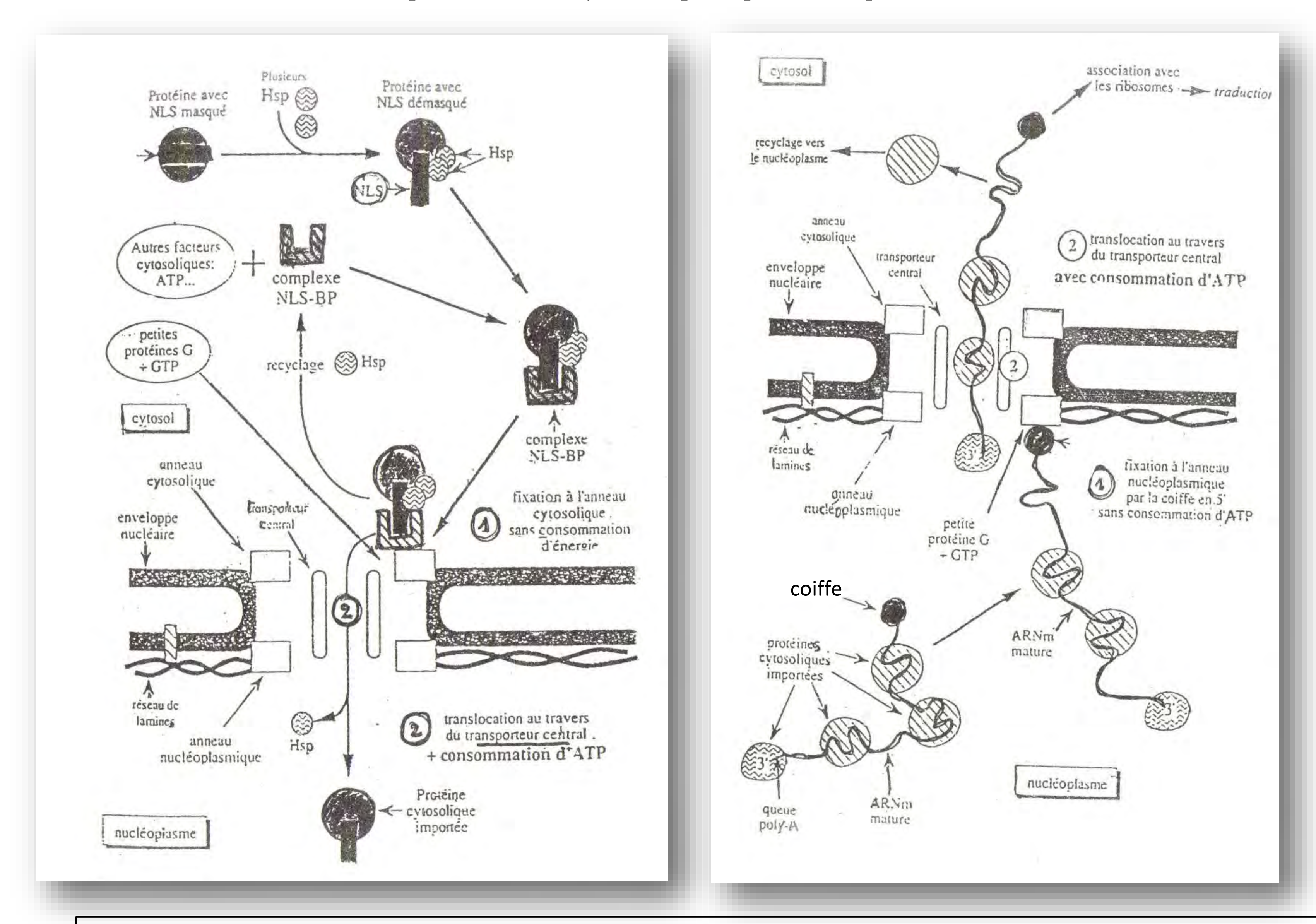


Composants moléculaires de l'enveloppe nucléaire.

Mme Benzine & Dekar

Faculté de Médecine **Année 2014 -2015**

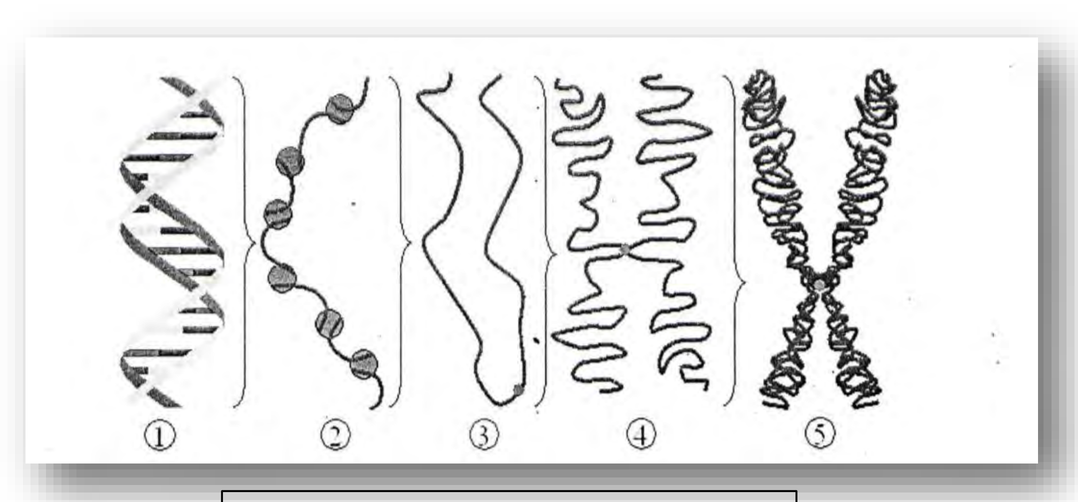
Chapitre VIII: Le noyau interphasique Le pore nucléaire



Mécanisme de l'importation(*gauche)* et de l'exportation (*droite)* des molécules aux travers du pore

Mme Benzine & Dekar

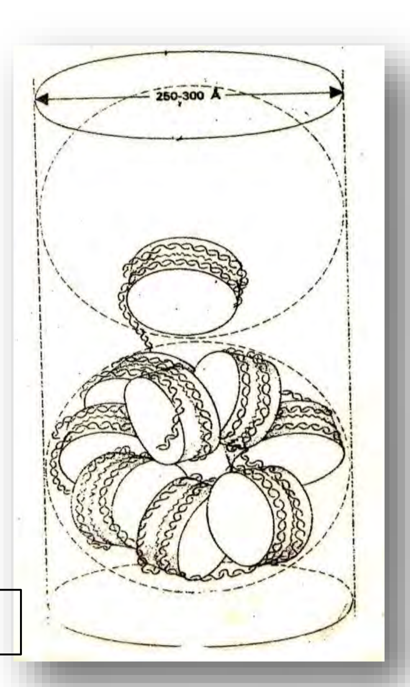
Chapitre VIII: Le noyau interphasique
La chromatine



Niveaux de compaction de l'ADN



Représentation de la Fibre nucléosomique ou fibre A

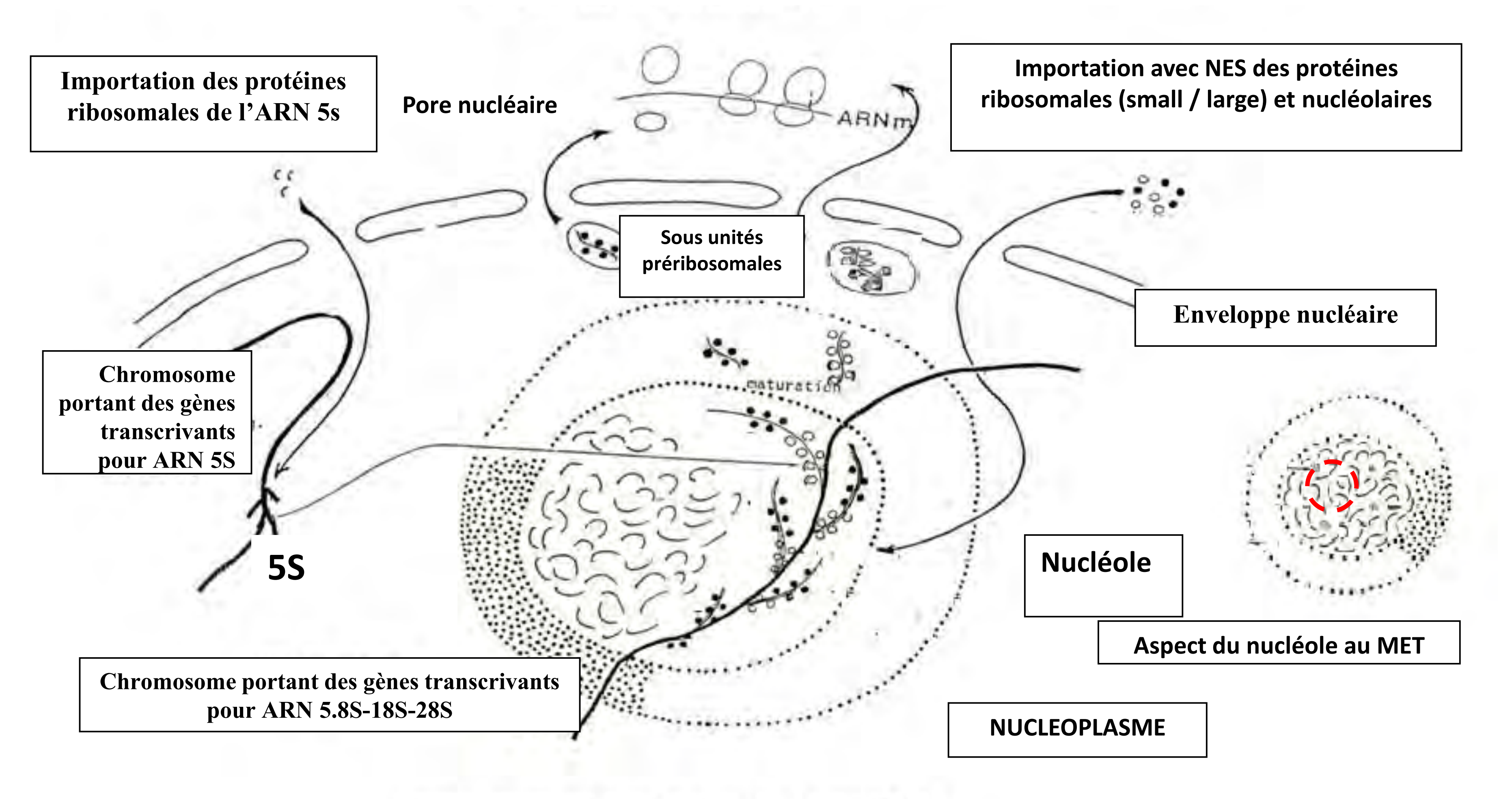


Compaction en fibre B selon le modèle solénoïde

TABLEAU RESUMANT LES DIFFERENES TECHNIQUES D'ANALYSE DU CONTENU NUCLEAIRE ET LEURS SIGNIFICATIONS PHYSIOLOGIQUES

Techniques	Chapitre Noyau interphasique Aspect au MET	Interprétations : Moléculaires / Activités métaboliques
Coupe mince et coloration positive	**Hétérochromatine** très dense aux e$^-$ et abondante ds cellules peu actives. Sa répartition est comme suit : **périphérique** : au contact de la Lamina **nucléoassociée** : périphérie du nucléole **dispersée** dans le nucléoplasme ………………………….. **Euchromatine** finement granulaire et peu dense aux e$^-$ et abondante ds cellules actives. Elle occupe le reste du nucléoplasme	**Hétérochromatine périphérique et nucléoassociée** ne sont pas transcrites ; elles constiruent l'**Hétérochromatine constitutive** **Hétérochromatine dispersée** peut être transcrite : elle est dite **facultative** Euchromatine :assure une **synthèse protéique intense** après ranscription
Autoradiographie	**Marquage à l'uridine (précurseur de l'ARN) marqué** : marquage (grains d'argent) est localisé seulement dans **euchromatine** **Marquage à la thymidine (précurseur de l'ADN) marquée : marquage localisé d'abord dans Euchromatine (début de phase S) puis tardivement (fin de phase S) dans l'hétérochromatine**	**Euchromatine est génétiquement active** : capable de Transcription **Euchromatine est à réplication précoce** ; **Hétérochromatine est à réplication tardive**
Coloration négative	La chromatine apparait sous forme de fibrilles d'épaisseur et d'aspect variables. Fibrilles de 10 à 11nm de Ø nommée également fibre A, en collier de perles, nucléosomique, relâchée, en zig zag Fibre de 20 à 30 nm de Ø nommée également fibre B ou épaisse	Fibre A : Successions de **nucléosomes** (H1+8Histones +¾ tourd'ADN) et de **liens Internucléosomiques** (ADN). Fibre B : correspond à une **compaction de la Fibre A (sous l'action des protéines non histones) en modèle solénoïde.**
Conclusions	**La chromatine est composée de Fibre A ou Euchromatine génétiquement active capable de réplication précoce (si la cellule n'est pas différenciée) et de transcription selon les besoins cellulaires. Elle est également constituée de Fibre B ; celle-ci représente les 3 différentes hétérochromatines dont 1 génétiquement active = H. dispersée (H.facultative) et 2 génétiquement inactives = H.périphérique +H. Nucléoassociée (H. constitutive).** **H. constitutive et Facultative présentent en commun une capacité de réplication.**	

Mme Benzine & Dekar

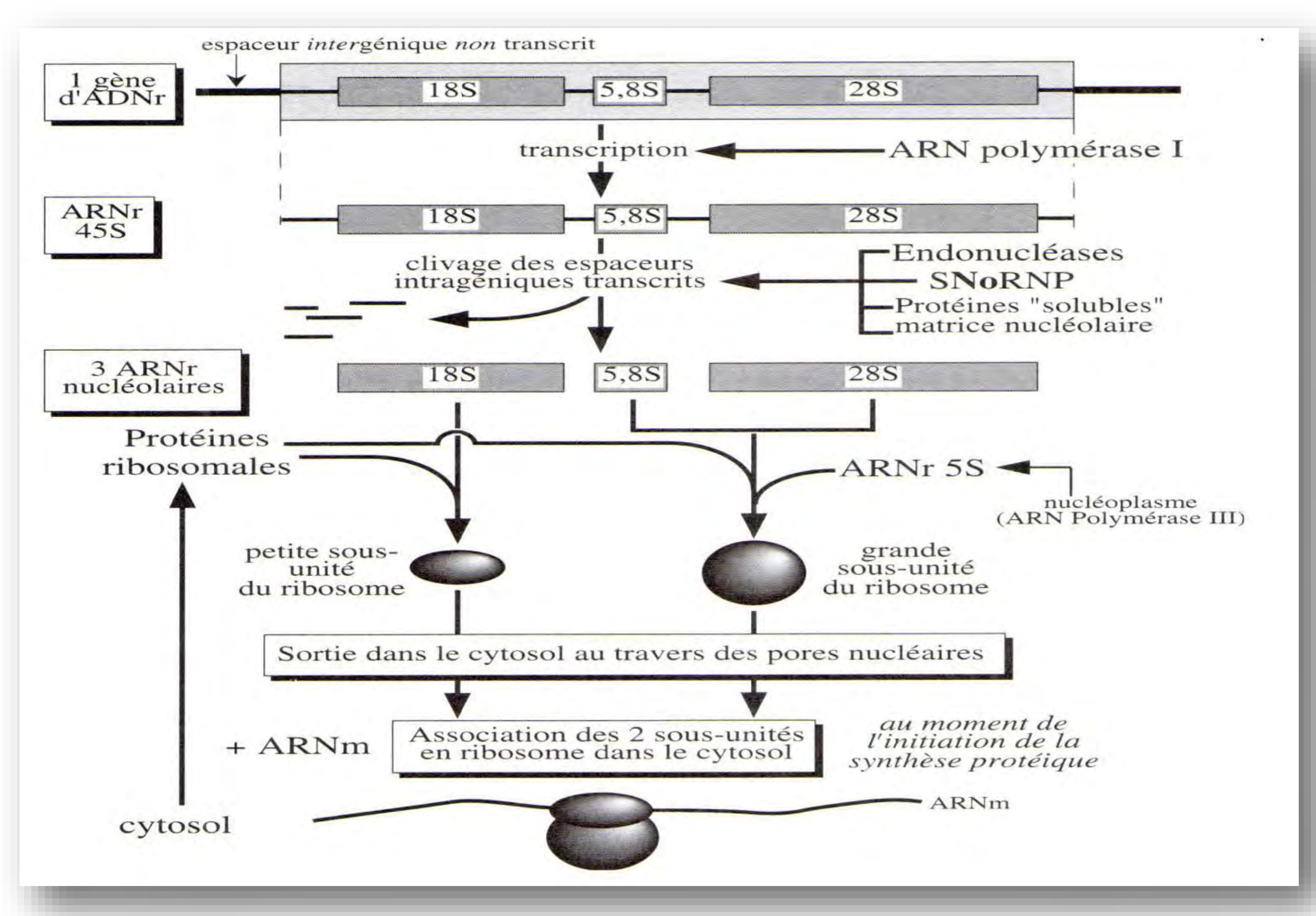


Ultrastructure fonctionnelle du nucléole

Mme Benzine & Dekar

Chapitre VIII: Le noyau interphasique

Le nucléole



Biogenèse des sous unités ribosomales

GENERALITES

1.Le noyau est présent dans tous les types cellulaires à l'exception des hématies et des kératinocytes

2.Les cellules renferment habituellement 1 noyau mais il existe des exceptions pour certains types cellulaires (cellules musculaires et Hépatiques)

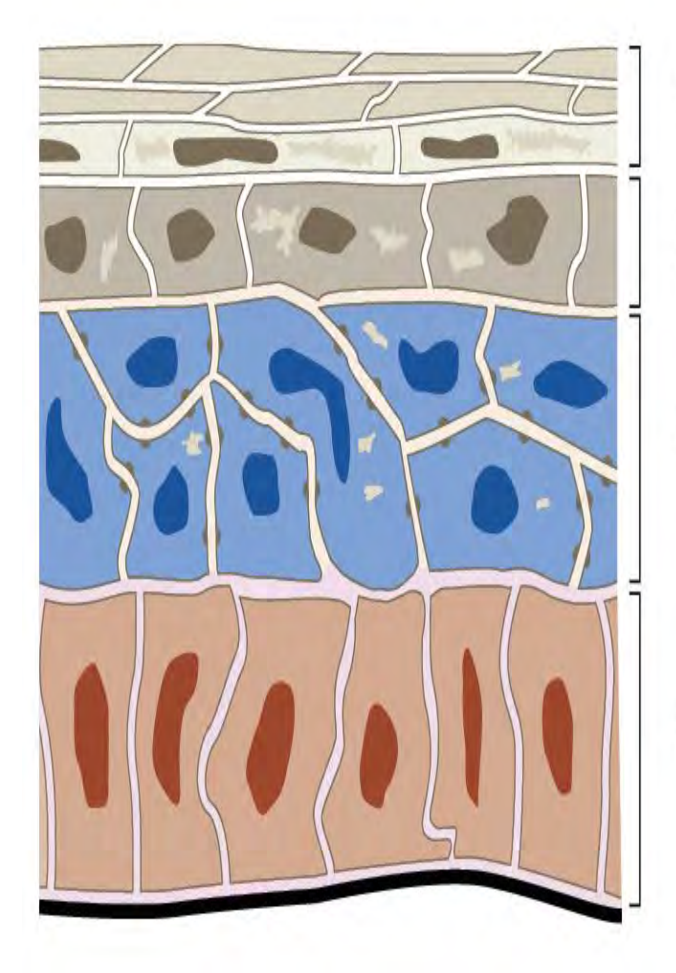
3. La forme du noyau s'adapte globalement à la forme et/ou à l'activité cellulaire

4. La position du noyau est variable; elle dépend de l'âge de la cellule et de l'importance des réserves élaborées

5. La taille du noyau est comprise entre 10 et 20 µ

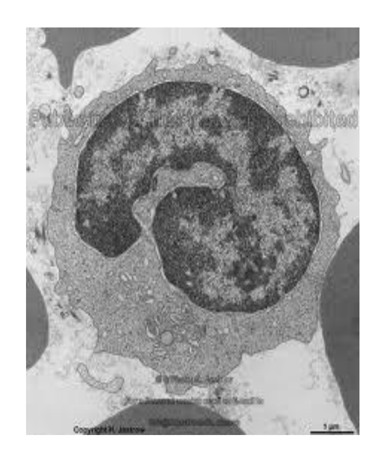
6. Le volume nucléaire est fixe pour un même type cellulaire mais peut varier d'un type cellulaire à un autre : notion de RNP

Noyau absent chez les kératinocytes et les globules rouges

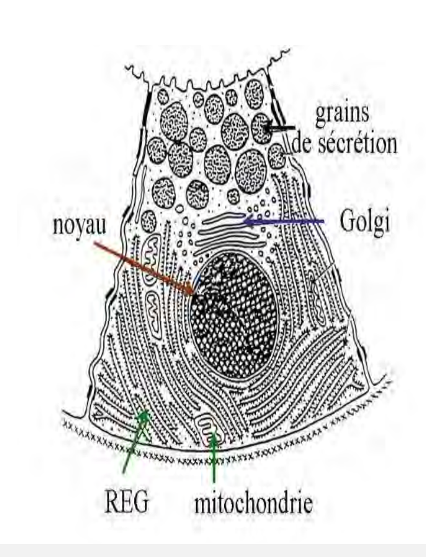




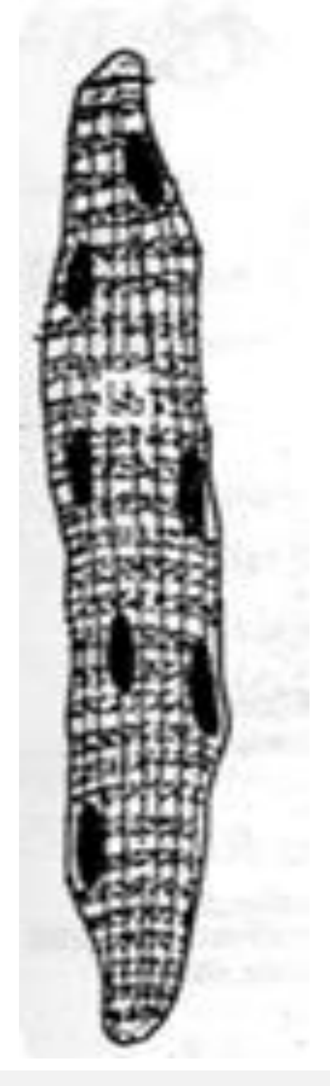
Variabilité de nombre de noyau



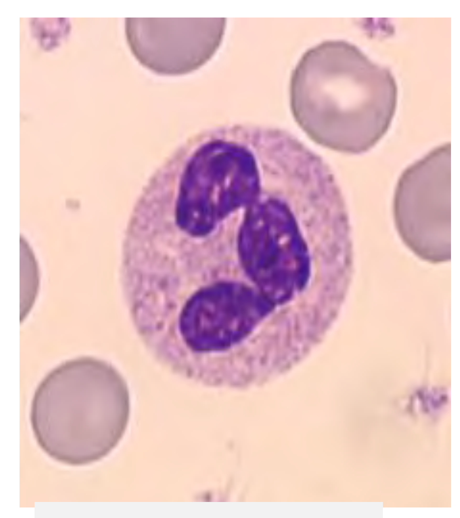
Monocyte sanguin



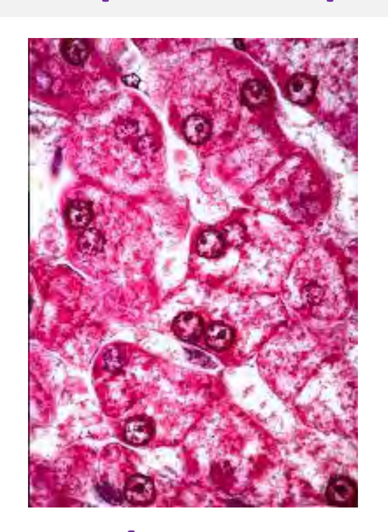
Cellule pancréatique



Cellule musculaire squelettique

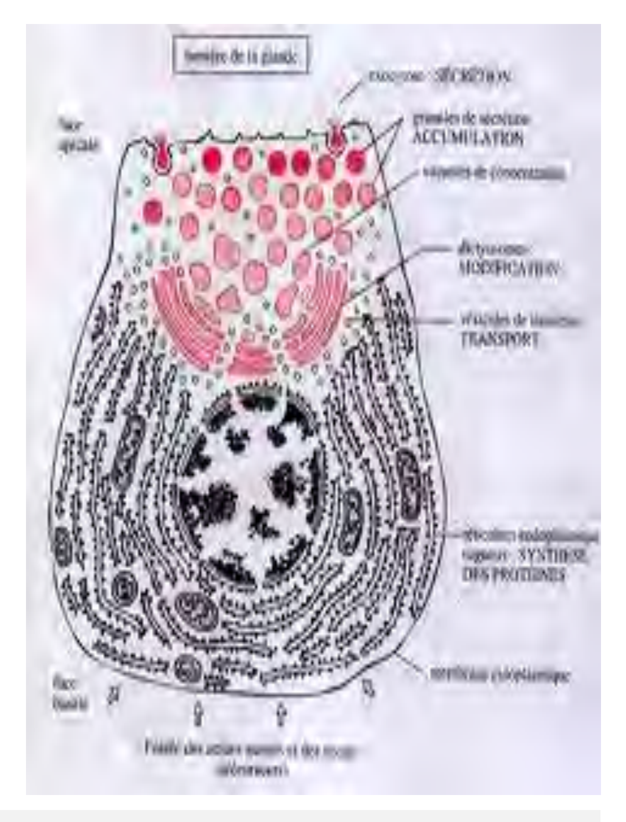


Polynucléaire

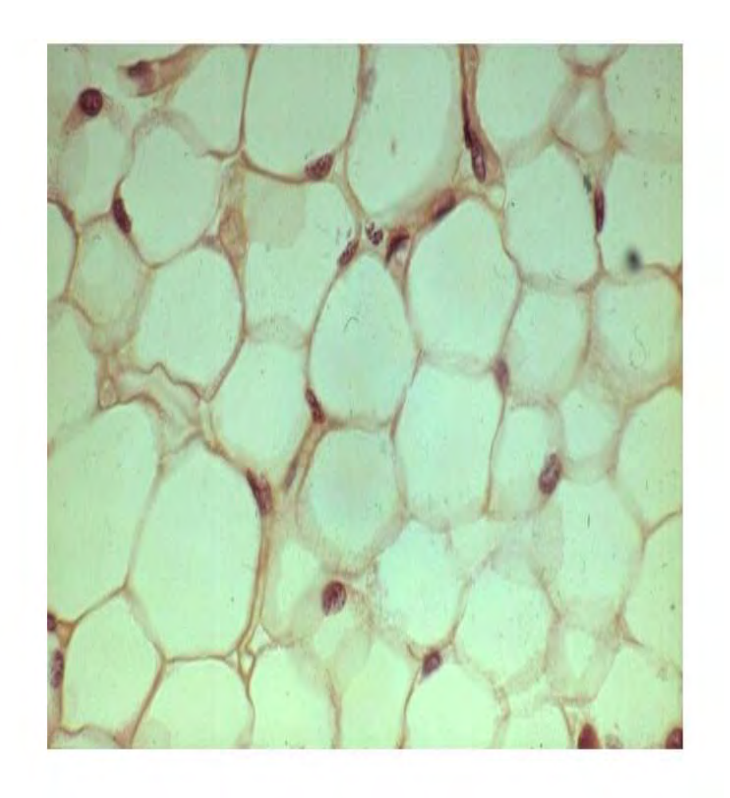


Hépatocytes

Variabilité de la position du noyau

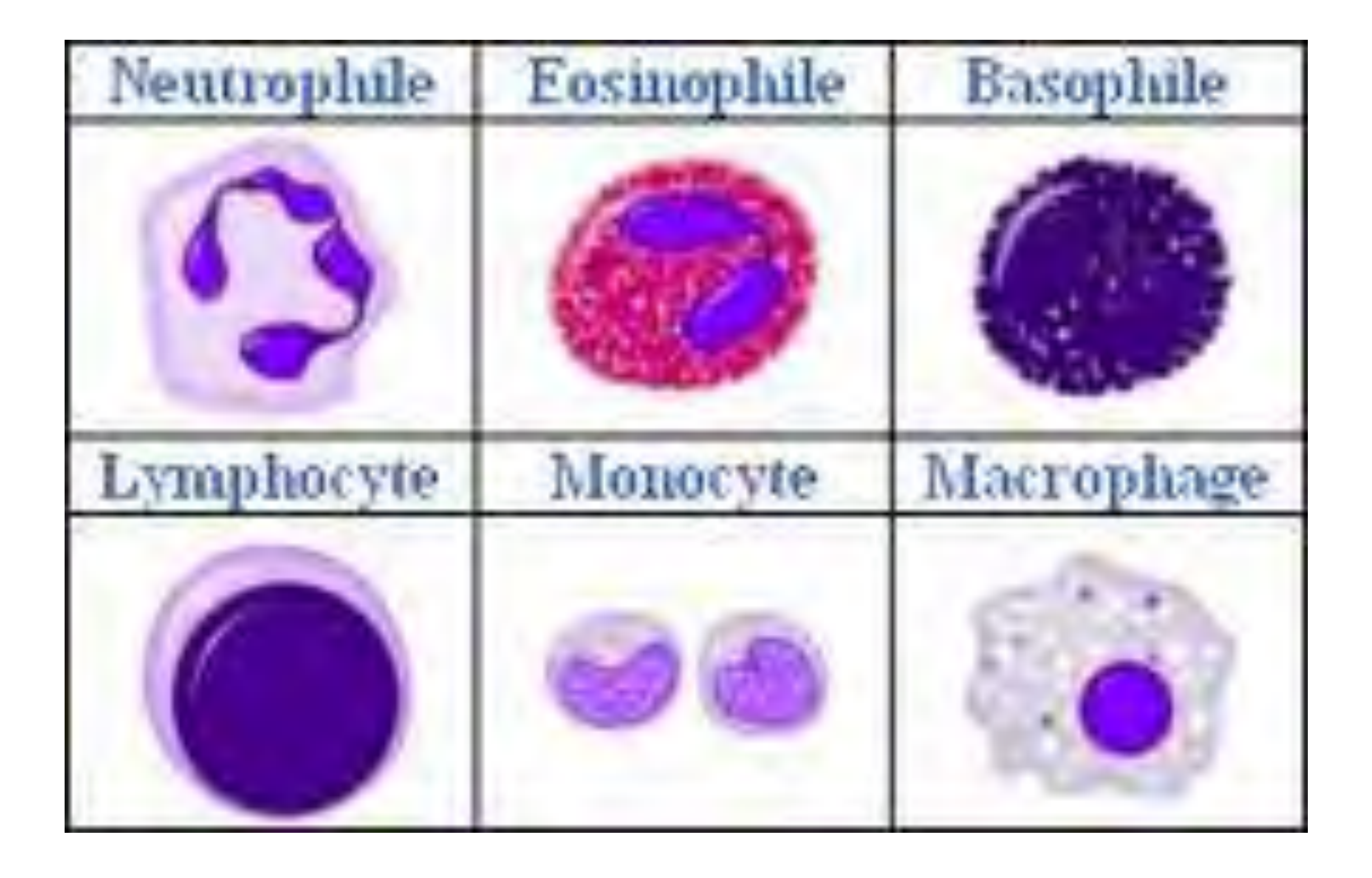


CELLULE PANCRÉATIQUE: noyau basal



ADIPOCYTE: noyau périphérique

Variabilité de la forme du noyau

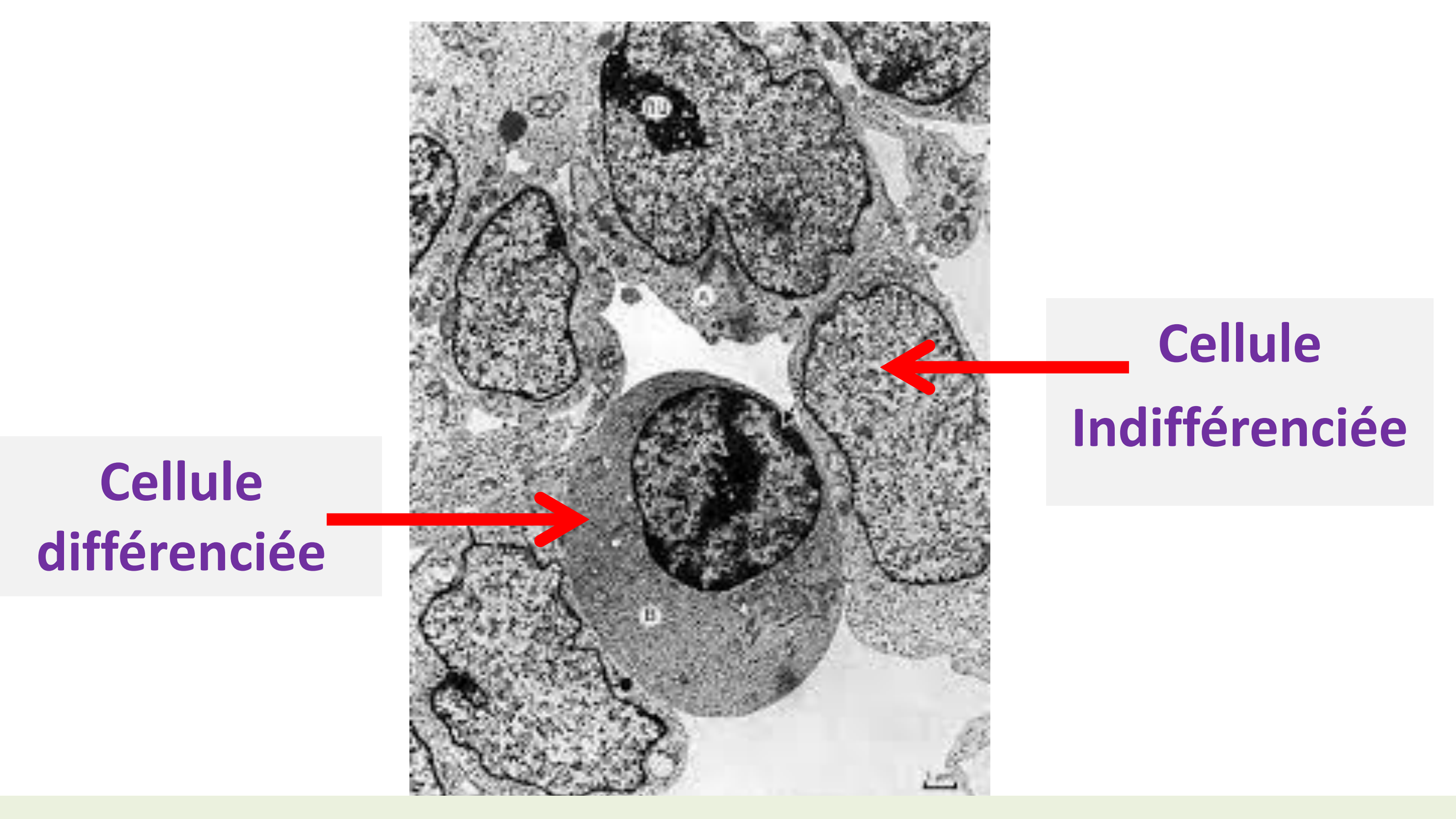


Pour une cellule donnée le RNP est fixe .

RNP = RAPPORT NUCLÉO PLASMIQUE

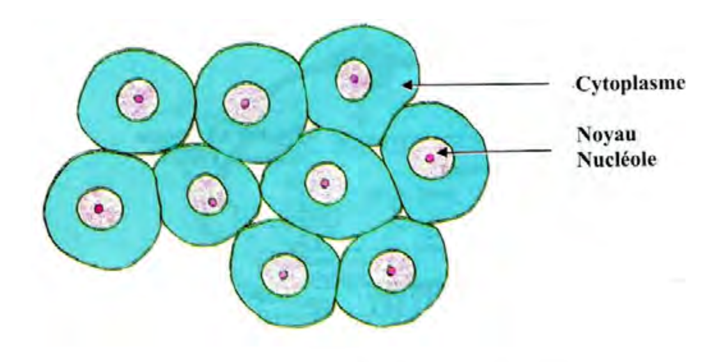
$$RNP = \frac{\text{Volume nucléaire}}{\text{Volume cytoplasmique}}$$

COMPARAISON DES VALEURS DE RNP

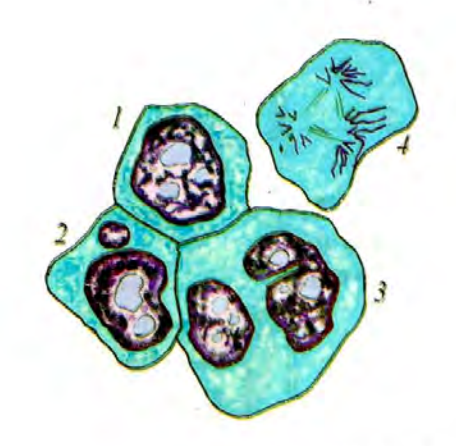


Au cours de la vie cellulaire le RNP passe d'une valeur élevée à une valeur plus faible. Il est fixe pour une espèce donnée. Chez l'homme le RNP est atteint au stade blastula. Il diminue au cours du vieillissement.

CAS DES CELLULES CANCÉREUSES ? (page 28)



A. Amas de cellules normales



En 1, 2 et 3 : cellules cancéreuses en interphase.
La chromatine est très colorée.
Les nucléoles très volumineux.
La membrane nucléaire épaissie et de contour irrégulier.
Le rapport nucléoplasmique est élevé.

4. Cellule cancéreuse en mitose. Remarquez l'existence de trois *pôles de migration des* chromosomes et l'inégalité de répartition de ces derniers.

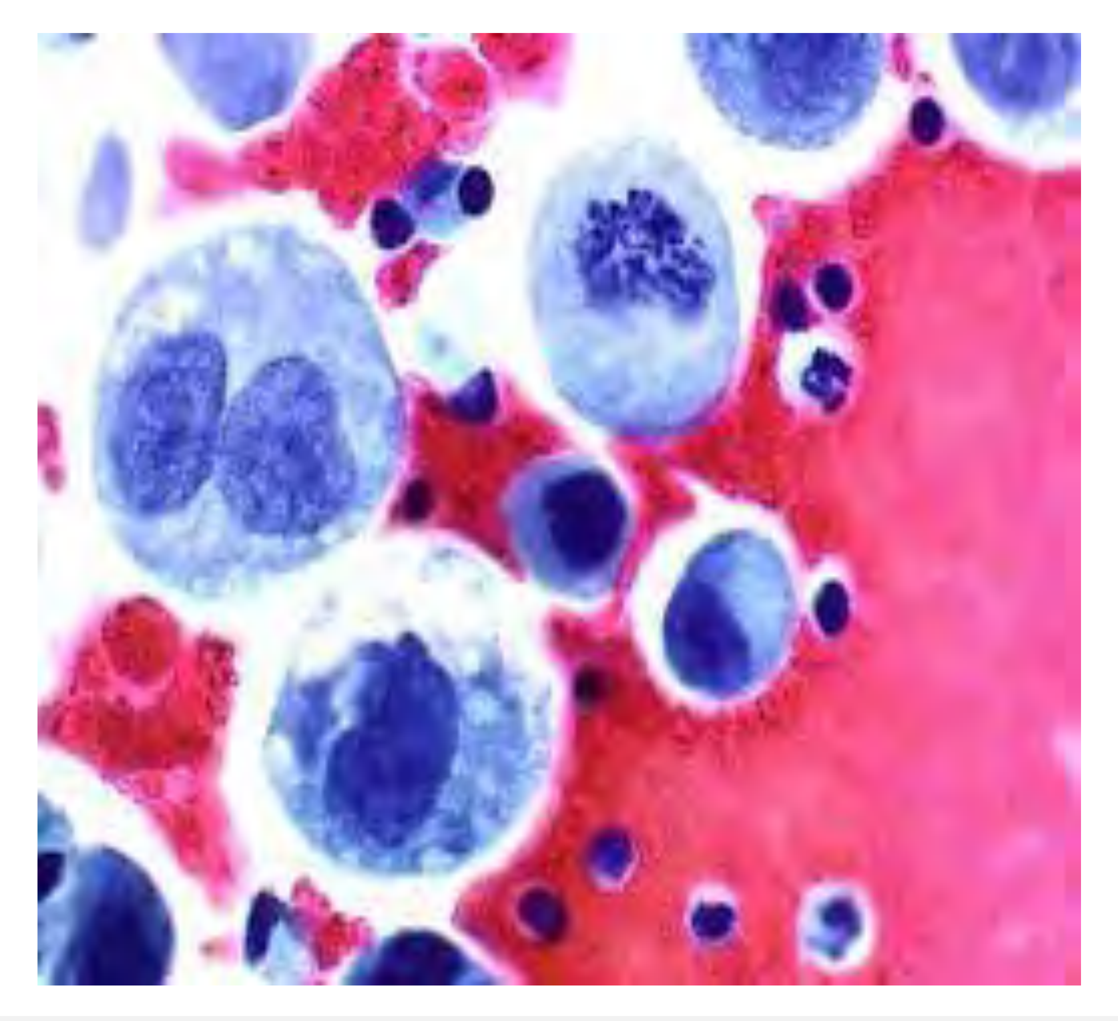
B. Amas de cellules cancéreuses



Critère de diagnostic tumoral

PLANCHE I: ANOMALIES DES CELLULES CANCEREUSES COMPAREES AUX CELLULES NORMALES DU MEME TISSU

Variabilité de la taille cellulaire et variabilité en nombre, position et aspect des noyaux.



CELLULES CANCÉREUSES DU SEIN OBSERVEES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE APRES COLORATION

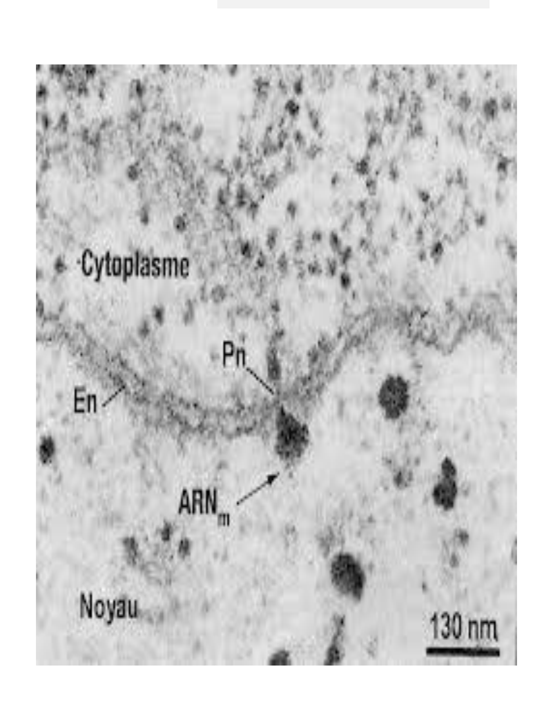
TECHNIQUES D'ÉTUDE

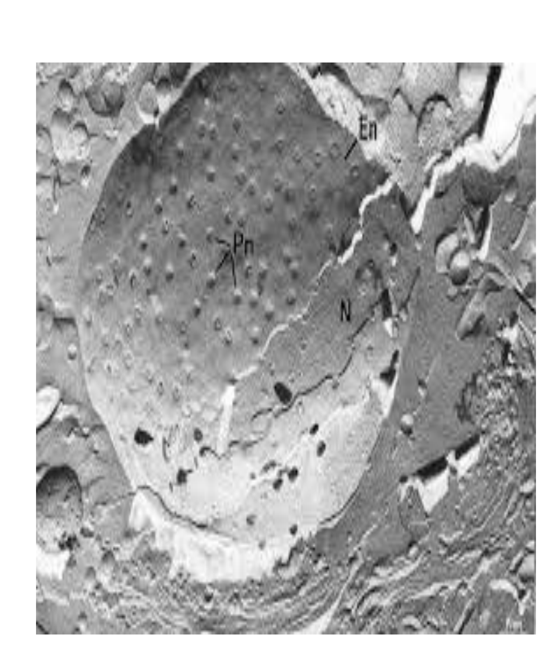
De nombreuses techniques sont utilisées pour l'étude ultrastructurale et fonctionnelle du noyau

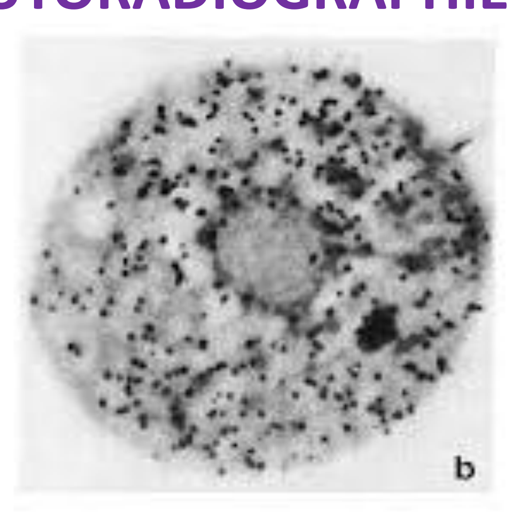
MET



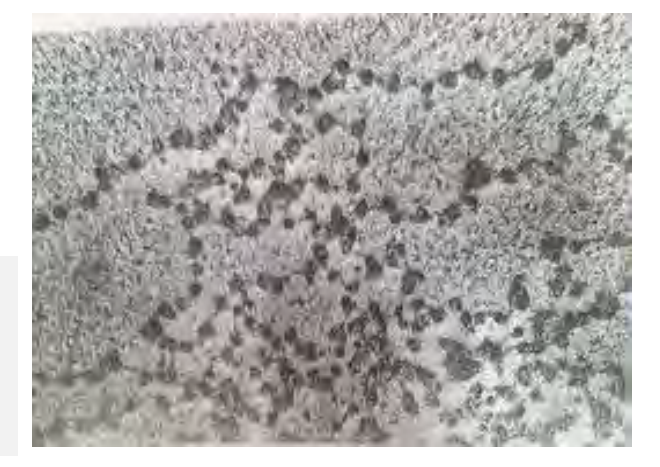
AUTORADIOGRAPHIE





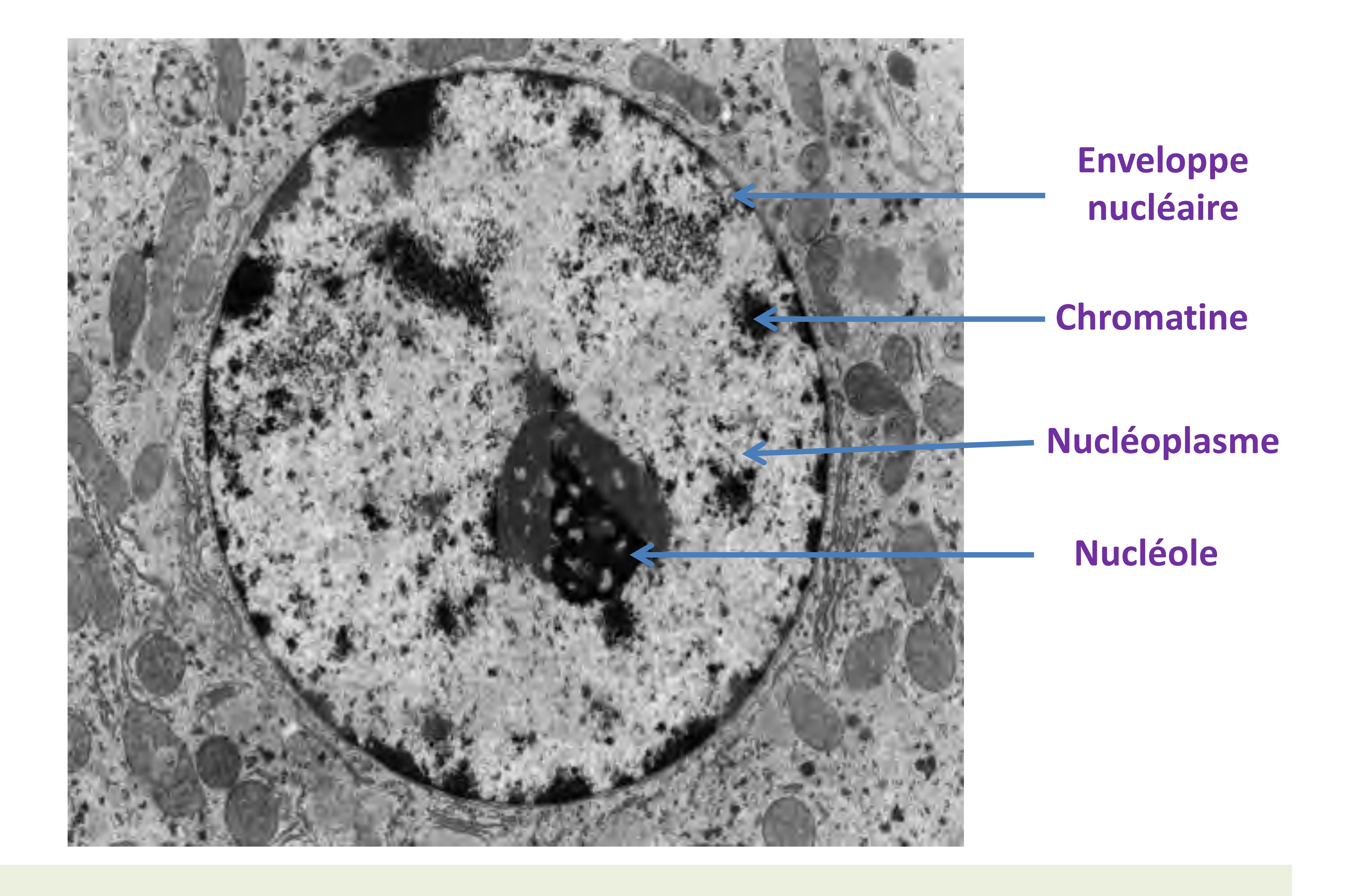


Coloration négative



ELEMENTS STRUCTURAUX DU NOYAU:

1. L'enveloppe nucléaire
2. Le nucléoplasme et la matrice nucléaire
3. La chromatine
4. Le nucléole



MICROGRAPHIE DU NOYAU OBSERVE AU MET: ASPECT ULTRASTRUCTURAL

1. L'ENVELOPPE NUCLÉAIRE

1.1 Ultrastructure
1.2 Composition chimique
1.3 Rôles
1.4 Biogénèse

1.1 Ultrastructure

Définition : L'enveloppe nucléaire est un ensemble membranaire complexe constituée d'une membrane externe, d'une membrane interne et d'un espace intermembranaire; elle sépare la chromatine du hyaloplasme durant l'interphase. Elle s'interrompt pour structurer les pores nucléaires.

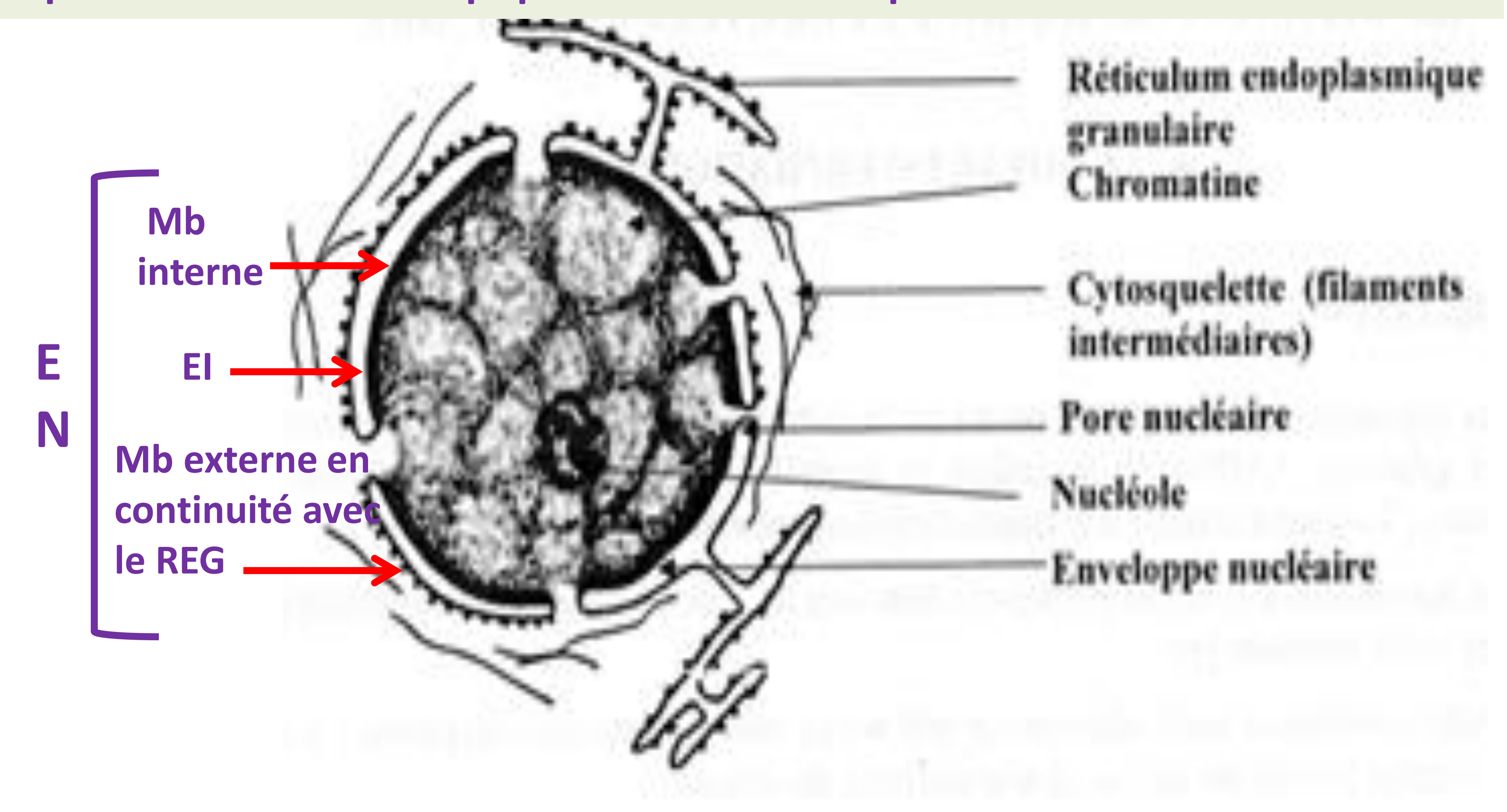
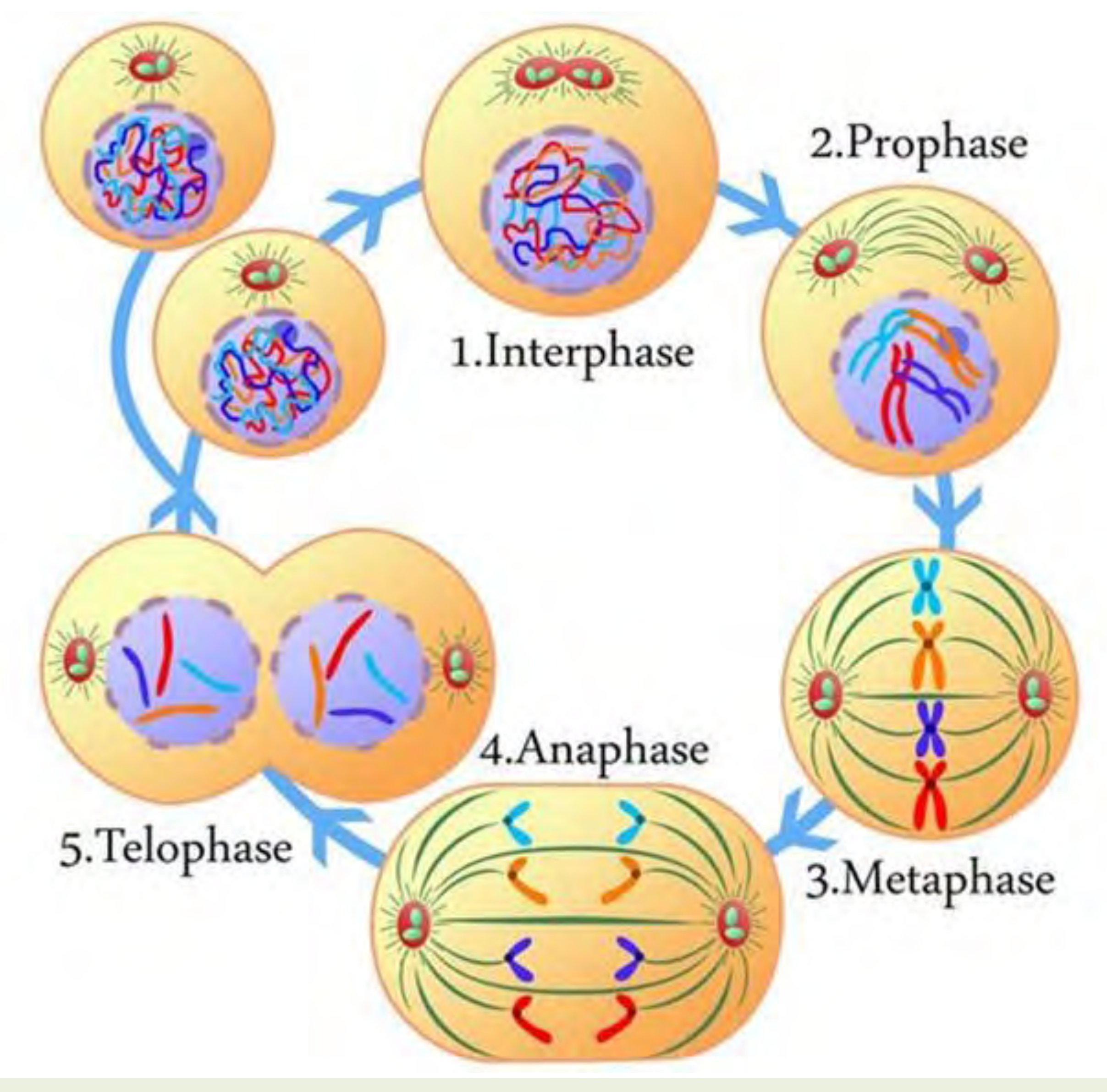
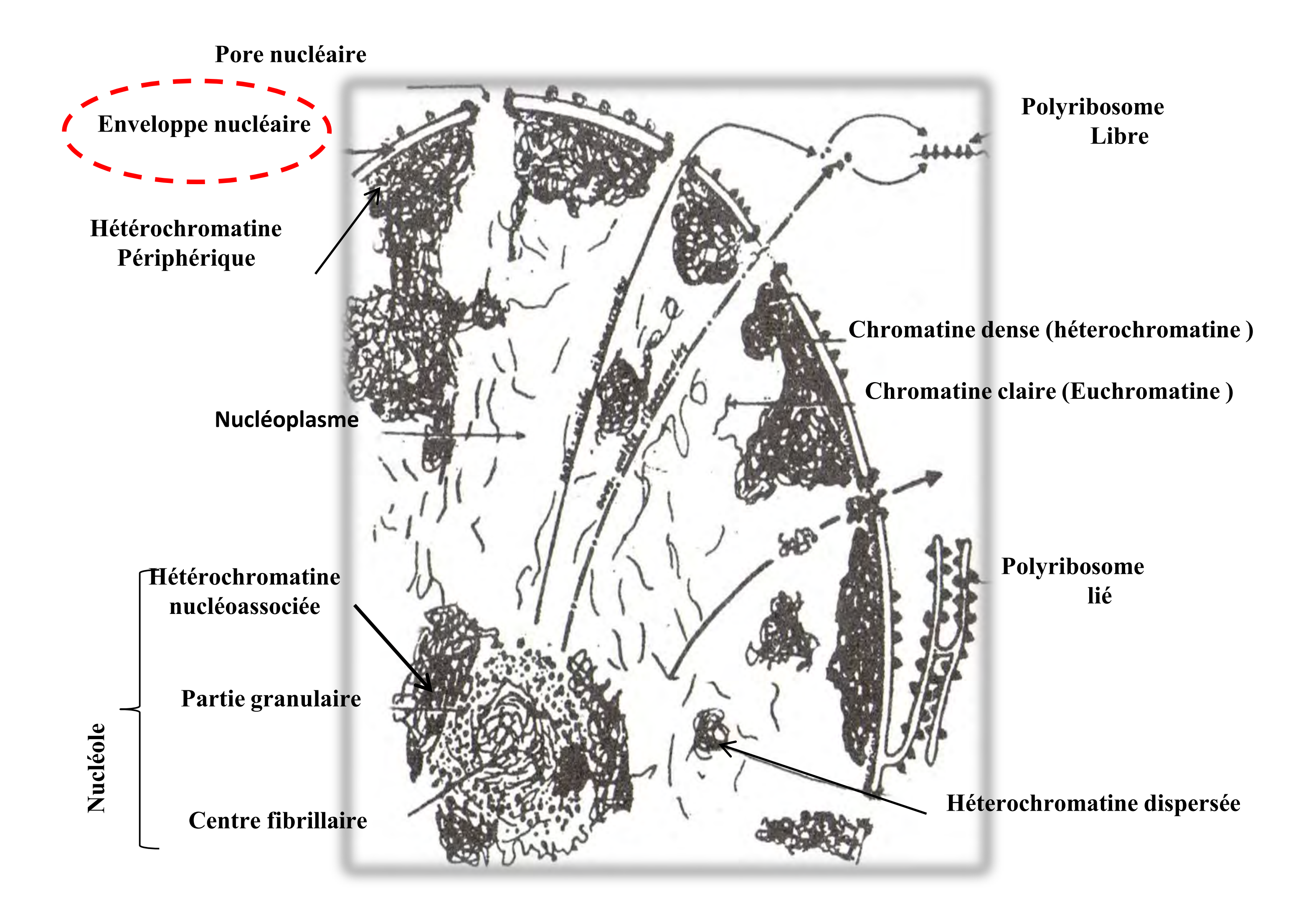


Schéma 1 : Ultrastructure du noyau. **(page 38)**



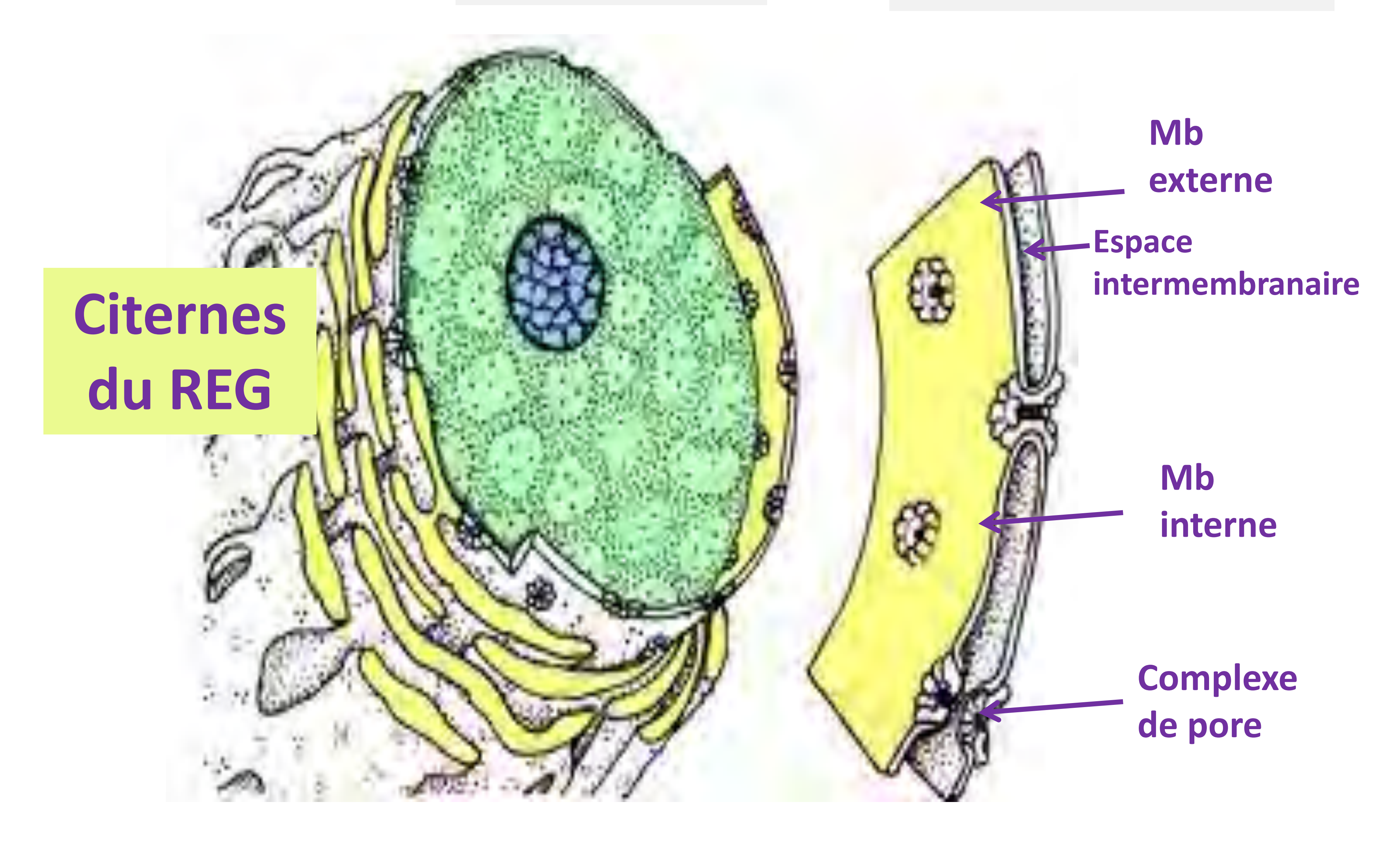
RAPPEL : Au cours d'un cycle cellulaire l'EN disparait à la prophase et réapparait à la télophase.



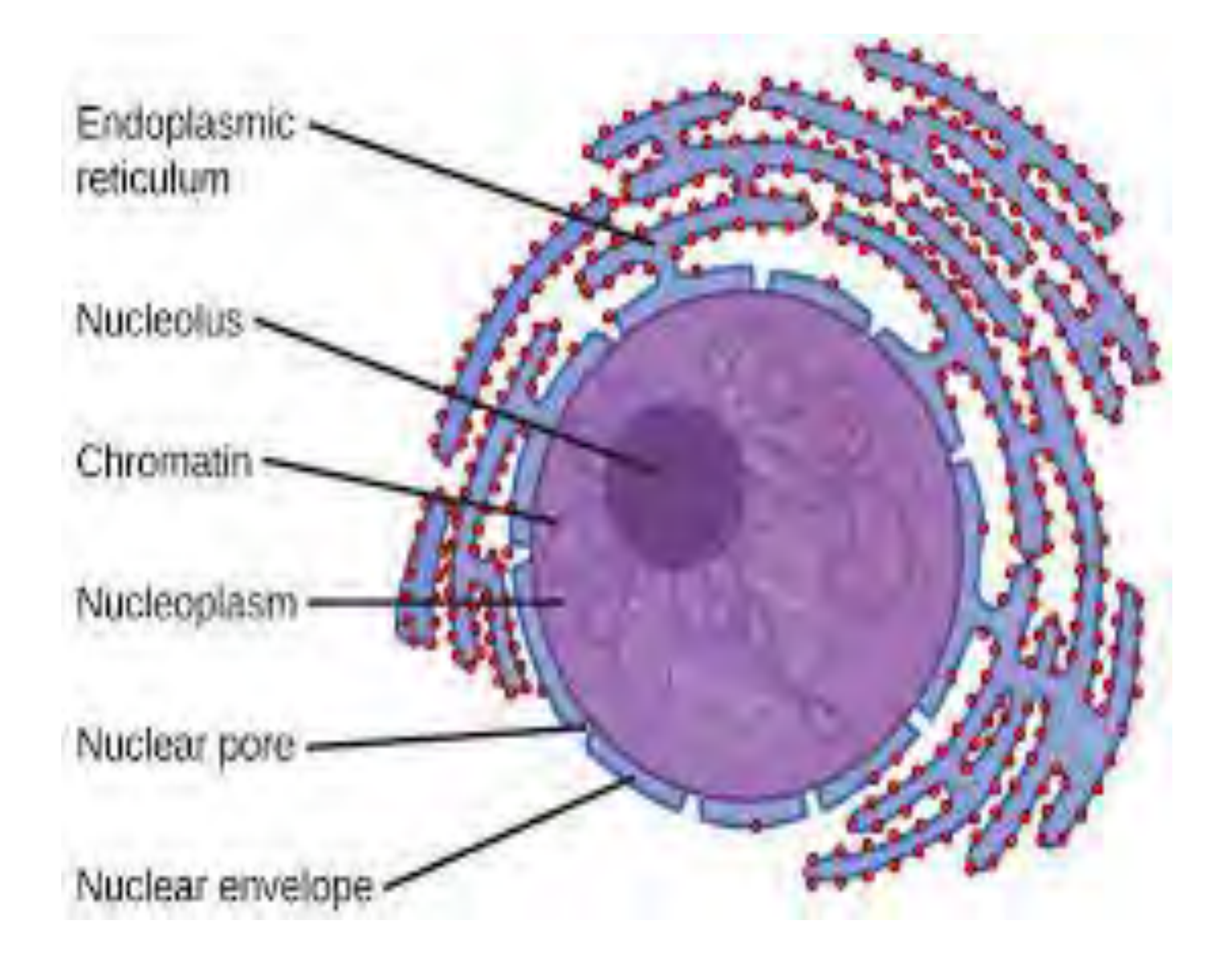
ASPECT ULTRASTRUCTURAL D'UNE PORTION D'UN NOYAU INTERPHASIQUE

Composants de l'enveloppe nucléaire

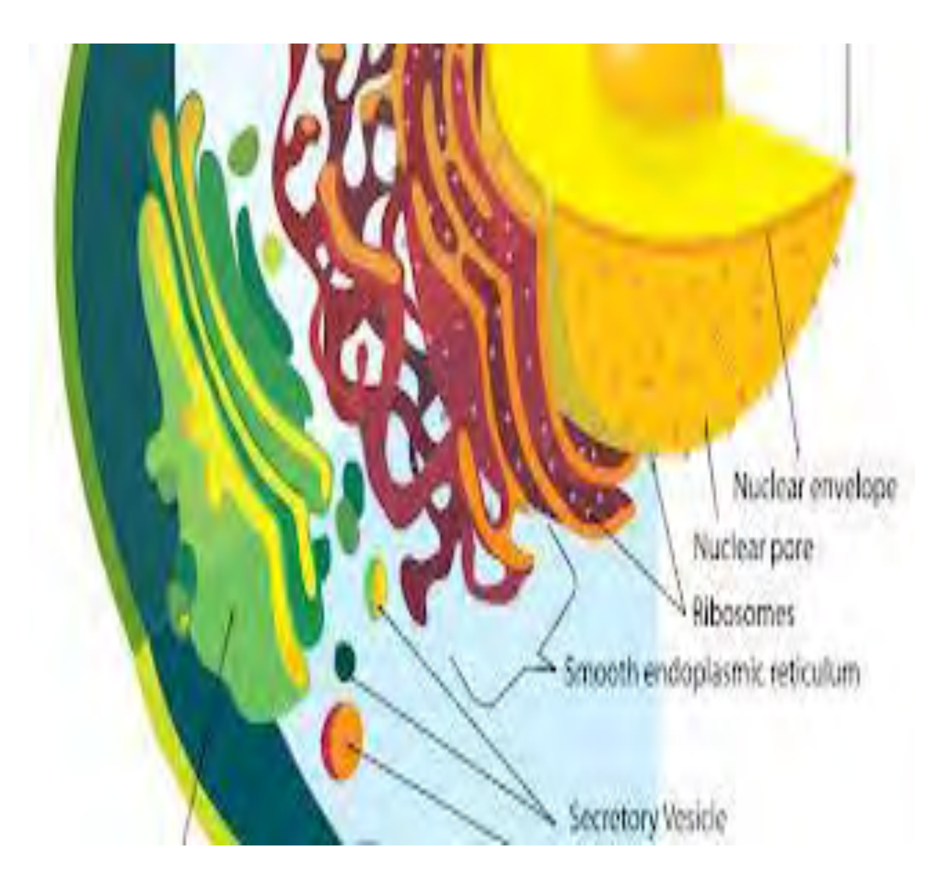
Noyau entier

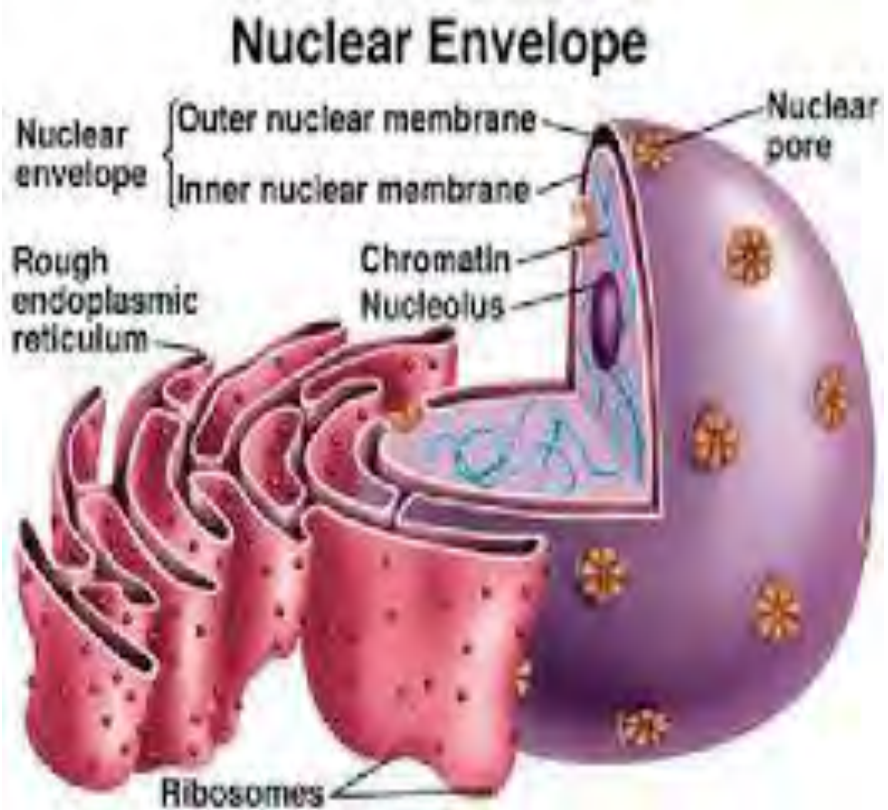


VERS LE CYTOSOL L'ENVELOPPE NUCLEAIRE EST EN CONTINUITE AVEC LE REG .



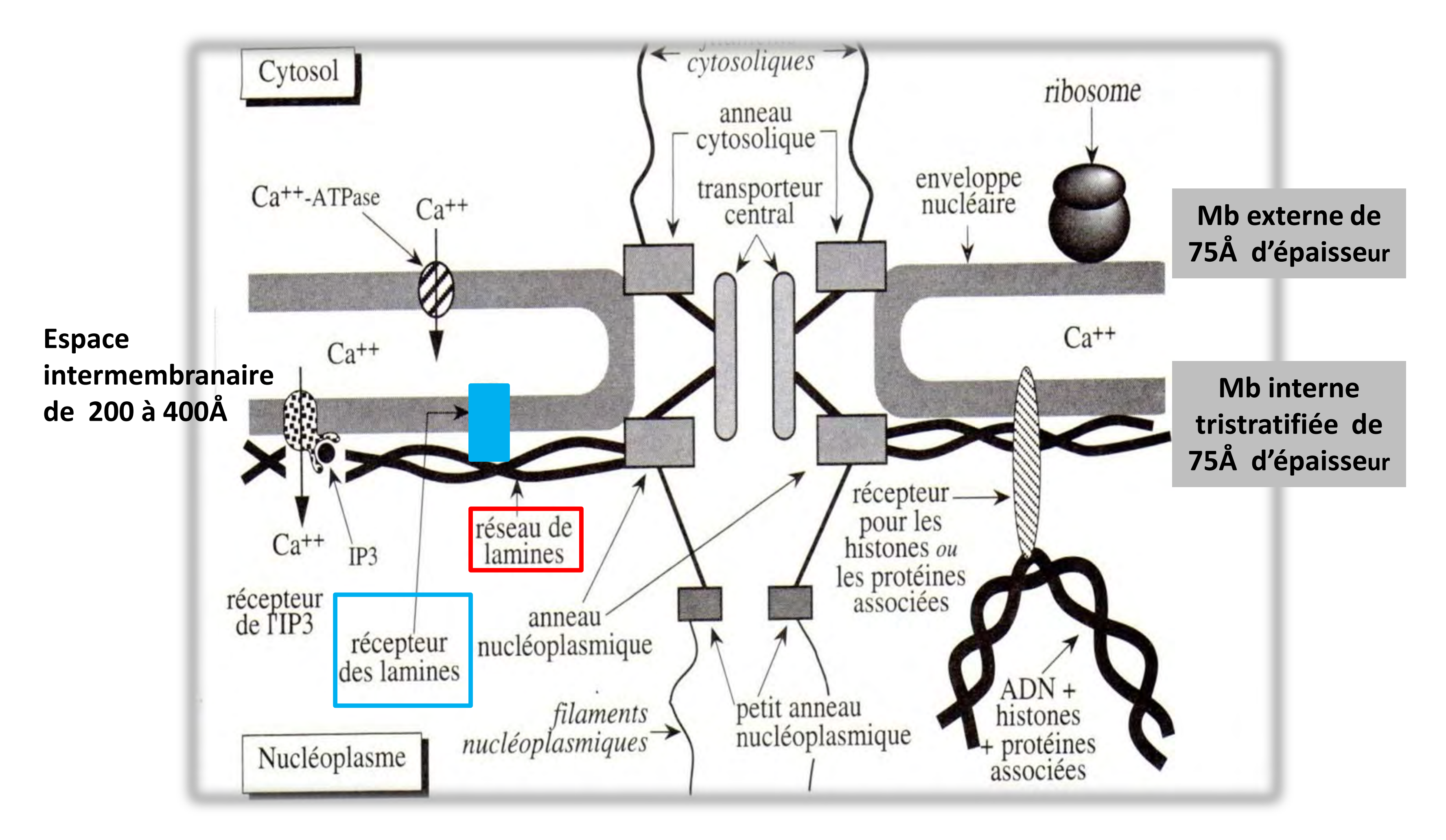
RELATION MORPHO-FONCTIONNELLE EN / REG.



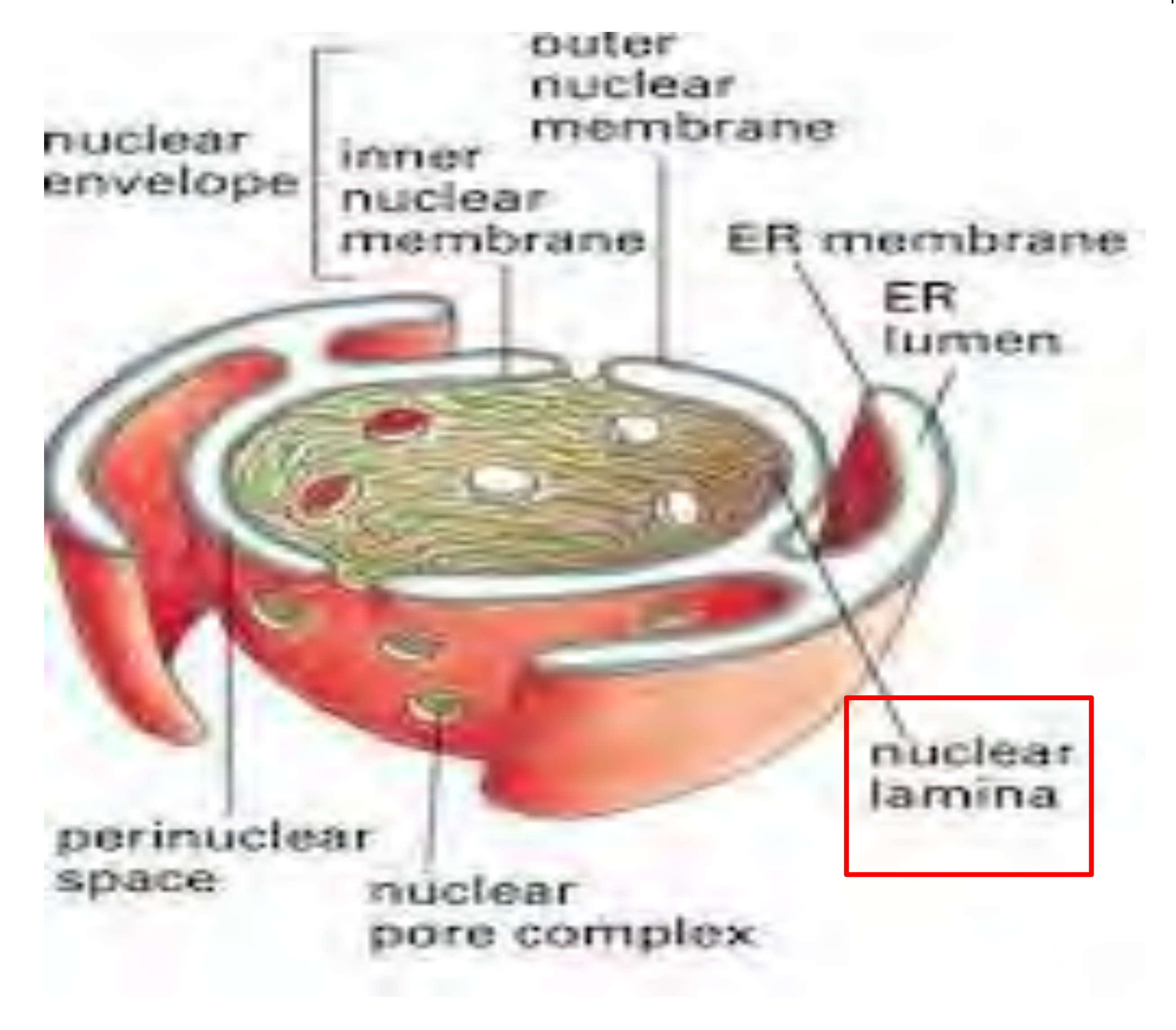


ESPACE INTERMEMBRANAIRE EN CONTINUITE AVEC LES LUMIERES DES CITERNES DU REG.

Sous l'EN, la Lamina se présente sous forme d'un réseau squelettique. Elle est composée de protéines de type lamines (A, B et C) appartenant aux filaments intermédiaires.



Composants moléculaires de l'enveloppe nucléaire.



LA LAMINA TAPISSE LA FACE INTERNE DE LA MEMBRANE INTERNE NUCLEAIRE . ELLES EST ABSENTE AU NIVEAU DES PORES.

L'EN S'INTERROMPT POUR ORGANISER LES PORES NUCLEAIRES (page 29)

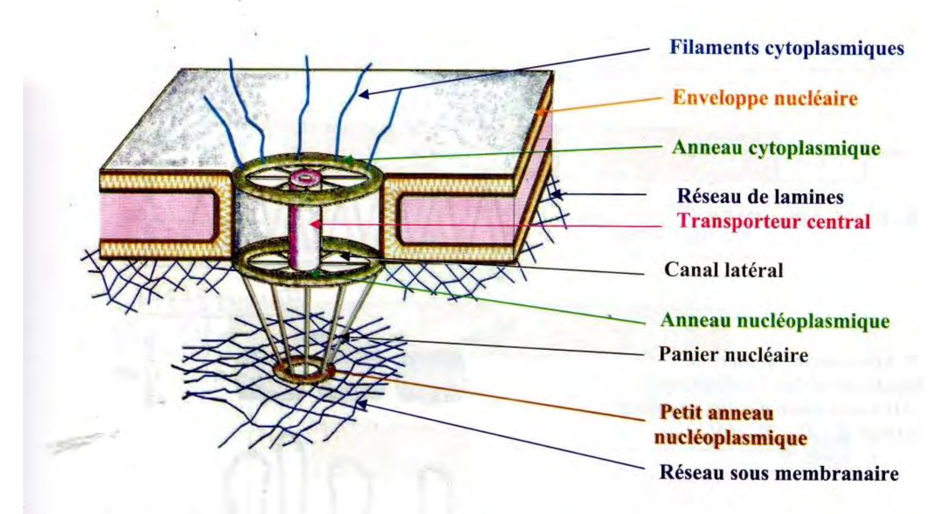


Schéma 2 : Aspect tridimensionnel du pore nucléaire.

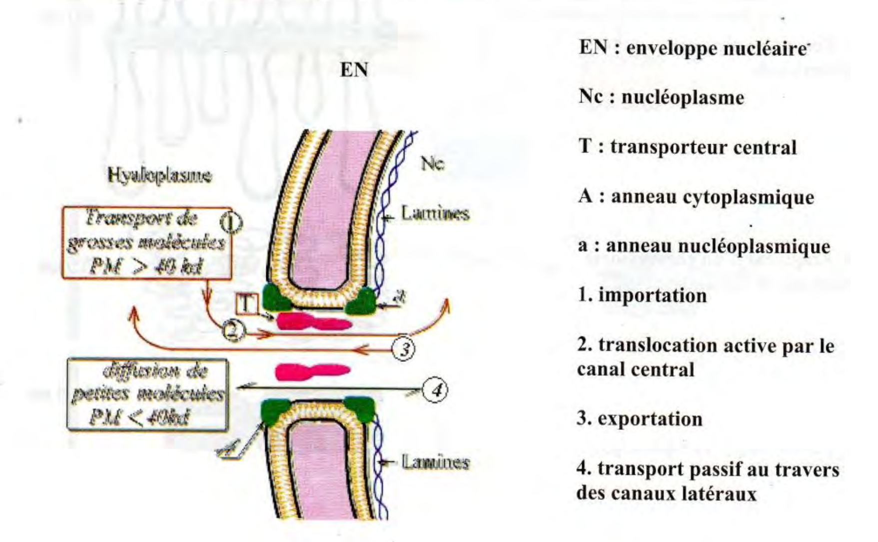
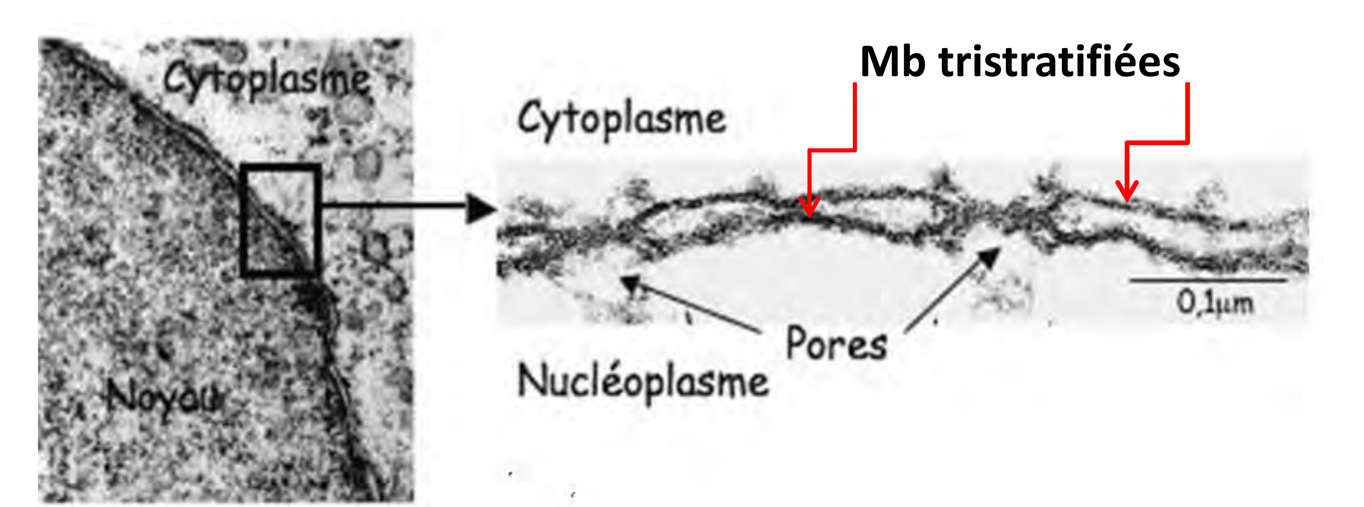
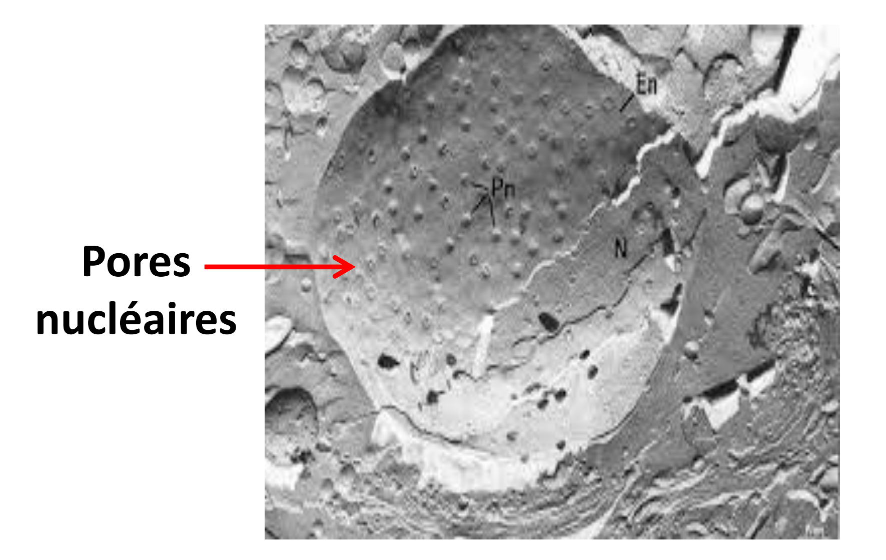


Schéma 3 : Voies de transport nucléo plasmique au travers du pore nucléaire.

ASPECTS DE L'EN ET DES PORES NUCLEAIRES EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE



LA DOUBLE MEMBRANE NUCLEAIRE AU MET (coloration positive)



ASPECT DE LA SURFACE MEMBRANAIRE NUCLEAIRE AU MEB (coloration négative)

1canal central

8canaux latéraux

0.1 µm

OBSERVATION DES PORES AU MET (coloration négative)

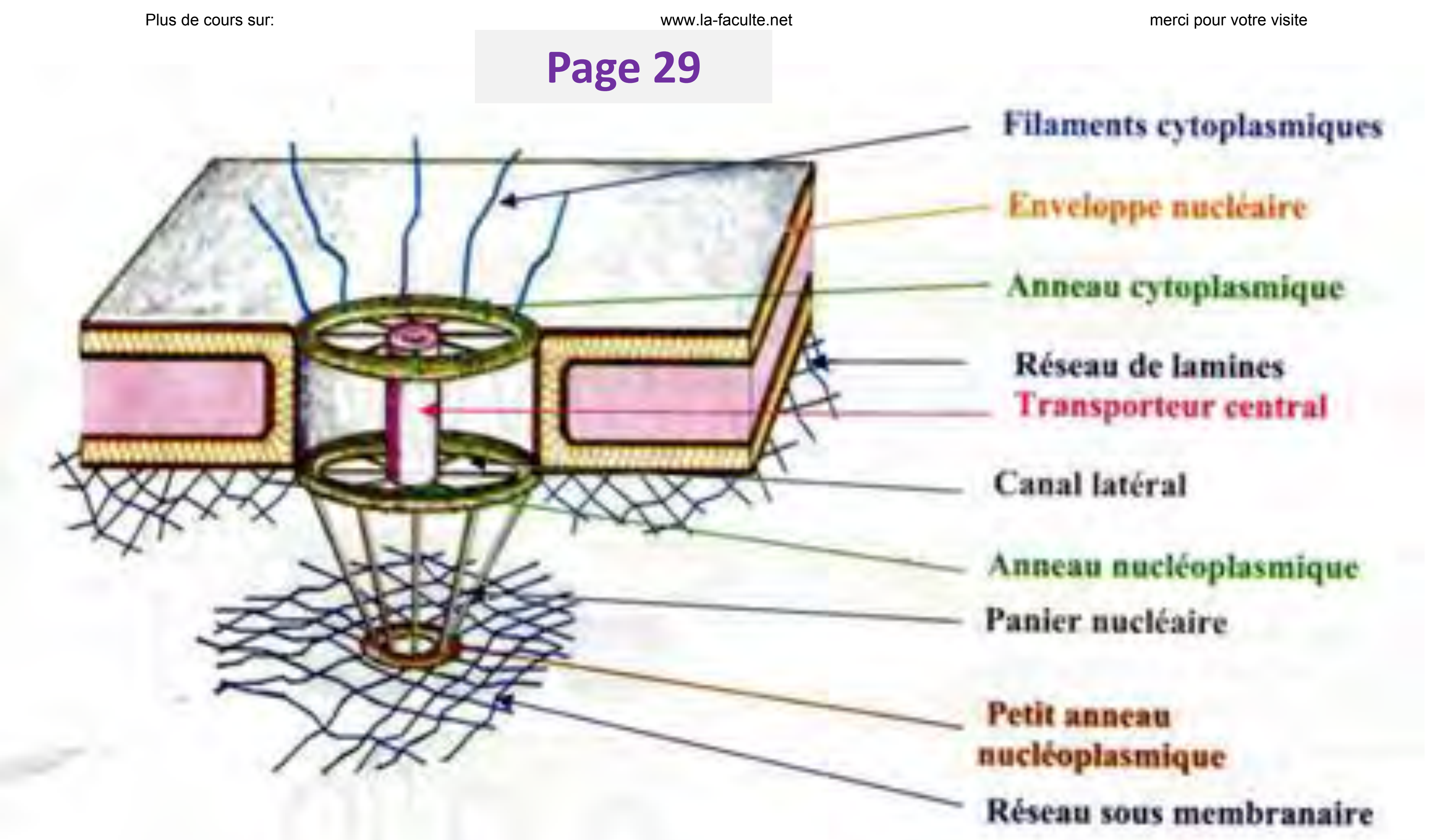
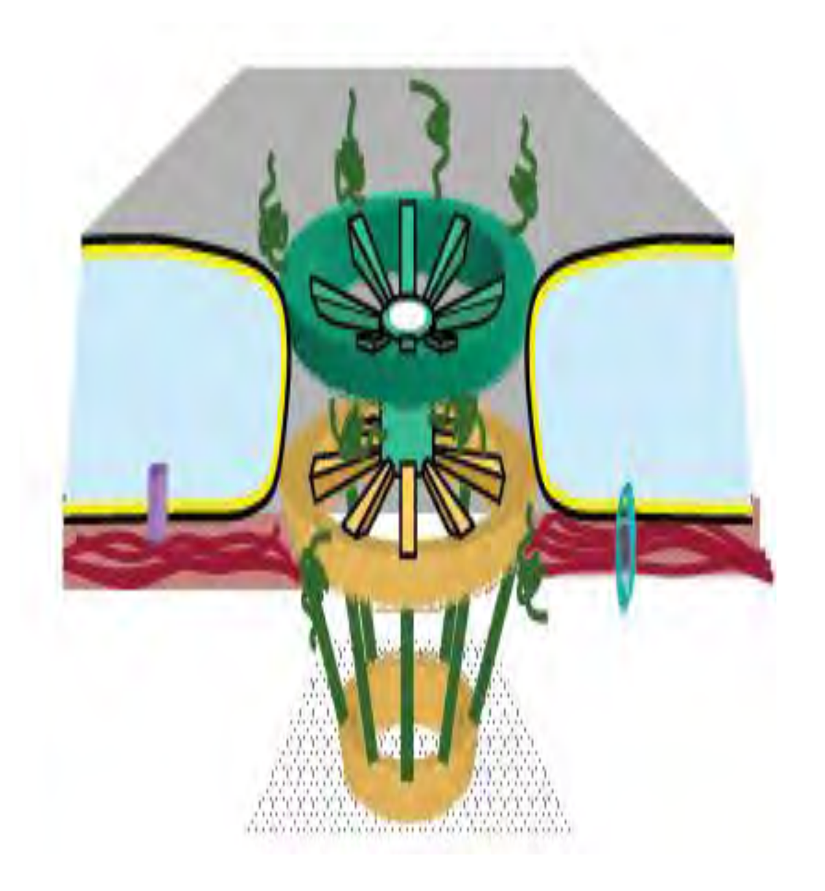
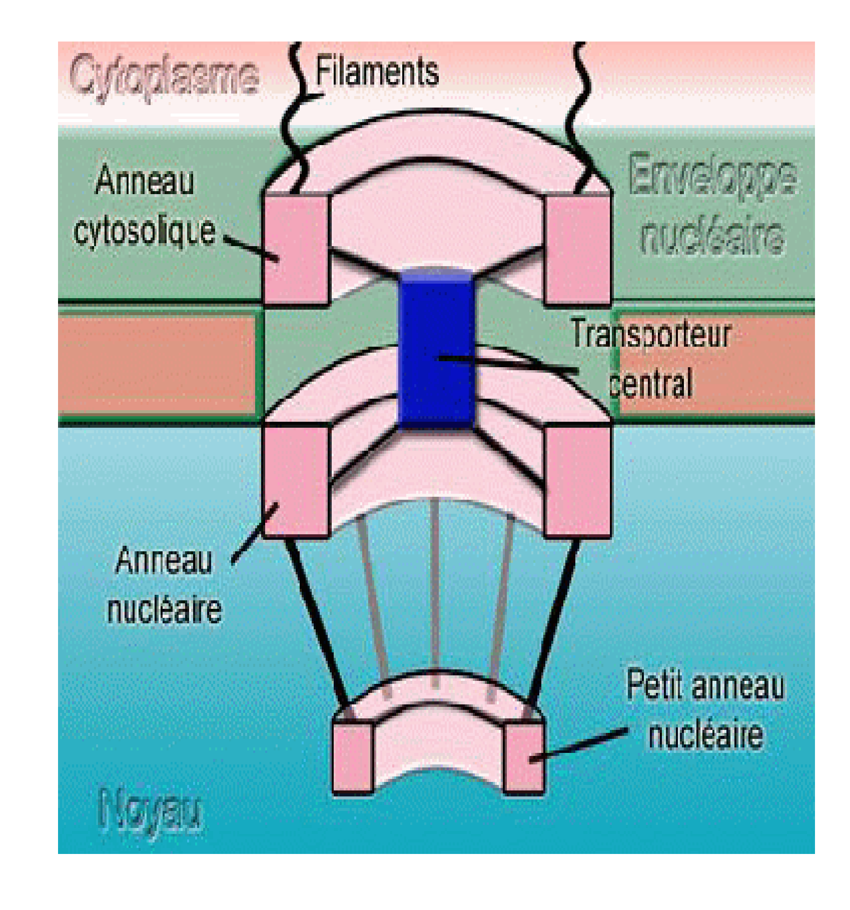


Schéma 2 : Aspect tridimensionnel du pore nucléaire.

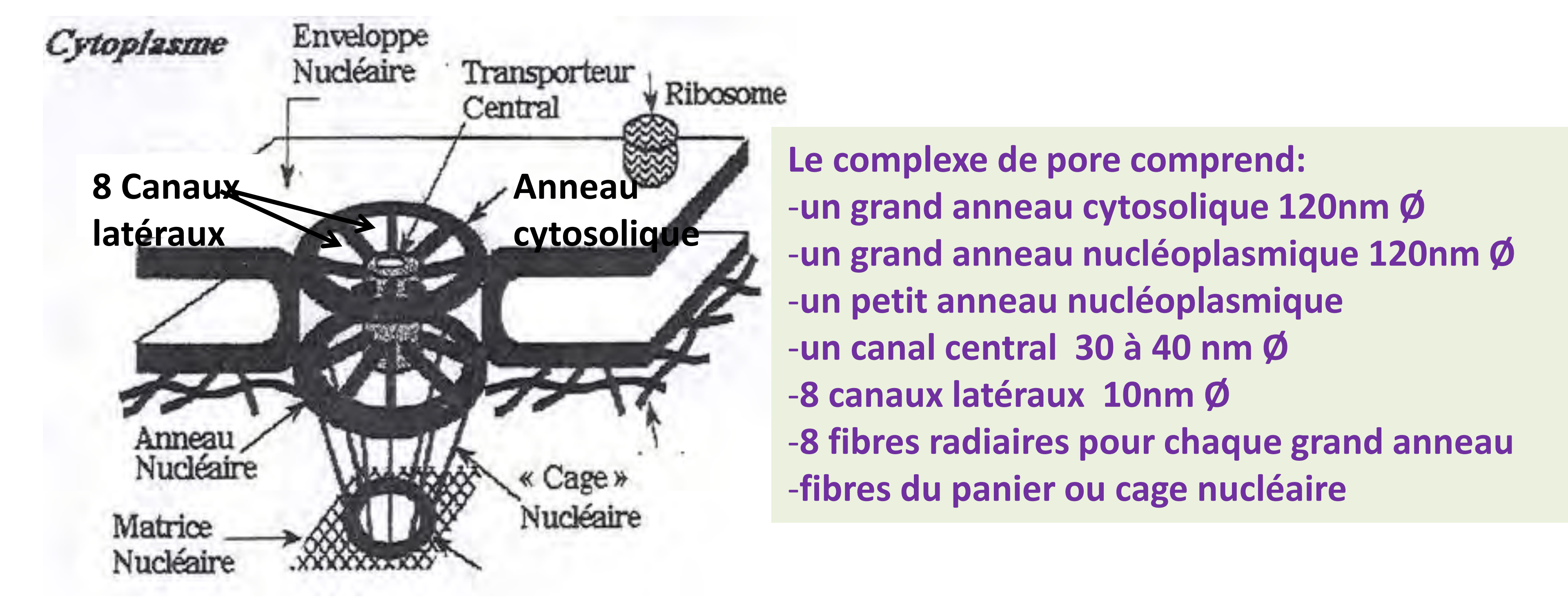
En perspective



En coupe longitudinale



ORGANISATION MOLECULAIRE DU PORE NUCLEAIRE / COMPLEXE DE PORE

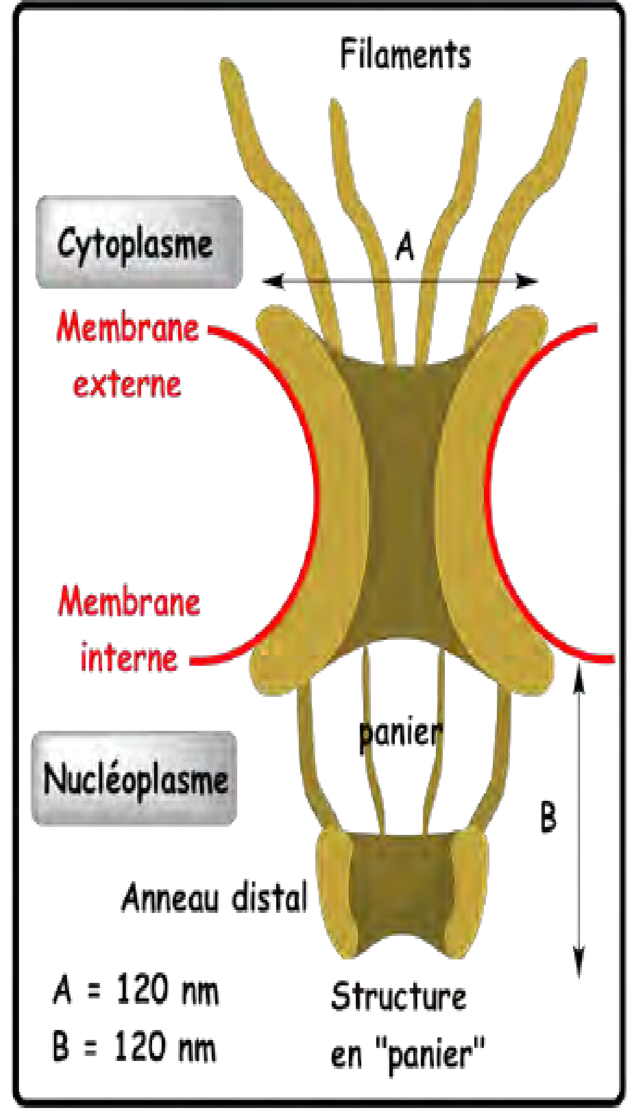


Le complexe de pore comprend:
- un grand anneau cytosolique 120nm Ø
- un grand anneau nucléoplasmique 120nm Ø
- un petit anneau nucléoplasmique
- un canal central 30 à 40 nm Ø
- 8 canaux latéraux 10nm Ø
- 8 fibres radiaires pour chaque grand anneau
- fibres du panier ou cage nucléaire

ULTRASTRUCTURE DU PORE NUCLEAIRE (MET)

Au cours de la vie cellulaire le nombre de pores nucléaires varie entre 3000 à 4000. Ce nombre est proportionnel à l'activité cellulaire. Les pores nucléaires sont donc des structures dynamiques.

Cytoplasme
Pore nucléaire
(complexe protéique)
Ribosomes
Lamina
nucléaire
Entrée / sortie
de molécules
Nucléoplasme
Réticulum
endoplasmique
Espace périnucléaire
Membrane interne
Membrane externe



RECAPITULATIF : LES ELEMENTS STRUCTURAUX DE L'ENVELOPPE NUCLEAIRE

1.2 Composition chimique

PRINCIPAUX COMPOSANTS CHIMIQUES DE L'EN

Membrane externe	Membrane interne	Espace intermembranaire	Complexe de pore
.G6 Phosphatase .Cytochromes b5 .Canaux calcique ATPasiques .Translocons .Récepteurs SRP .Protéines Bip chaperonnes .Dolichol	.Récepteurs de lamines .Récepteurs des histones / protéines associées .Canaux calcique IP3dépendants	.Ca^{++} .Peptidases du signal .N glycosyl trasnférases .Glycosidases .PDI . Protéines diverses en maturation	Nucléoporines
Remarque: les chaines glucidiques des composants glycosylés sont orientées vers l'espace intermembranaire			

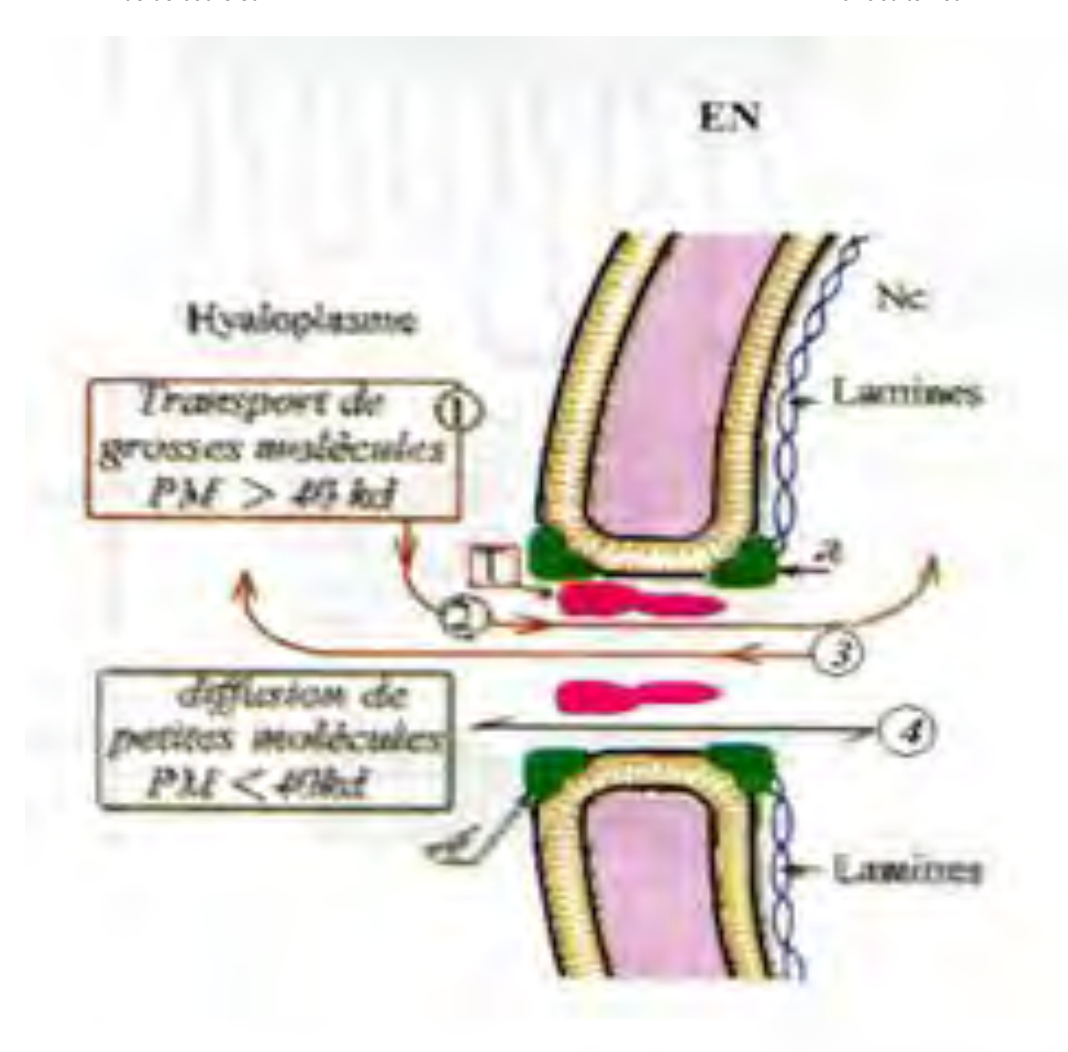
1.3 Rôles de l’enveloppe nucléaire.

ROLES DE L'ENVELOPPE NUCLEAIRE

1. **IDENTIQUES AU REG**: synthèse protéique ; initiation de la glycosylation des protéines et des phospholipides
2. **IDENTIQUES AU REL** : synthèse des hormones stéroïdes et du cholestérol, détoxification et stockage de calcium
3. **ROLES SPECIFIQUES:**

.points d'attache de la chromatine

.échanges bidirectionnels : importation et exportations de diverses molécules.



EN : enveloppe nucléaire

Nc : nucléoplasme

T : transporteur central

A : anneau cytoplasmique

a : anneau nucléoplasmique

1. importation

2. translocation active par le canal central

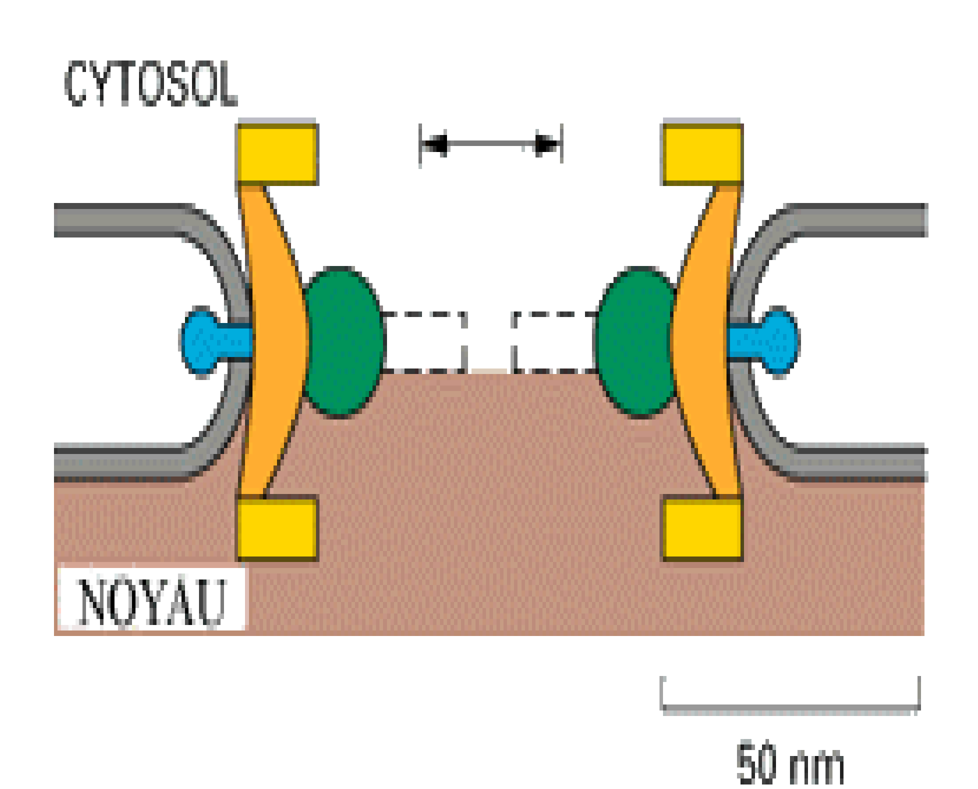
3. exportation

4. transport passif au travers des canaux latéraux

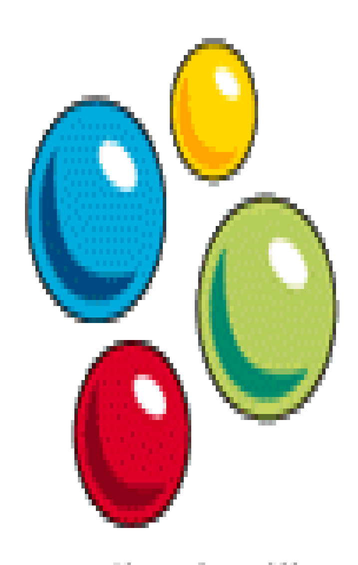
Schéma 3 : Voies de transport nucléo plasmique au travers du pore nucléaire.

(page 29)

2 systèmes de transport au travers du pore nucléaire :passif et actif







Protéine de taille suffisante pour pouvoir entrer par diffusion

Protéine de taille supérieur entrant dans le noyau par transport actif

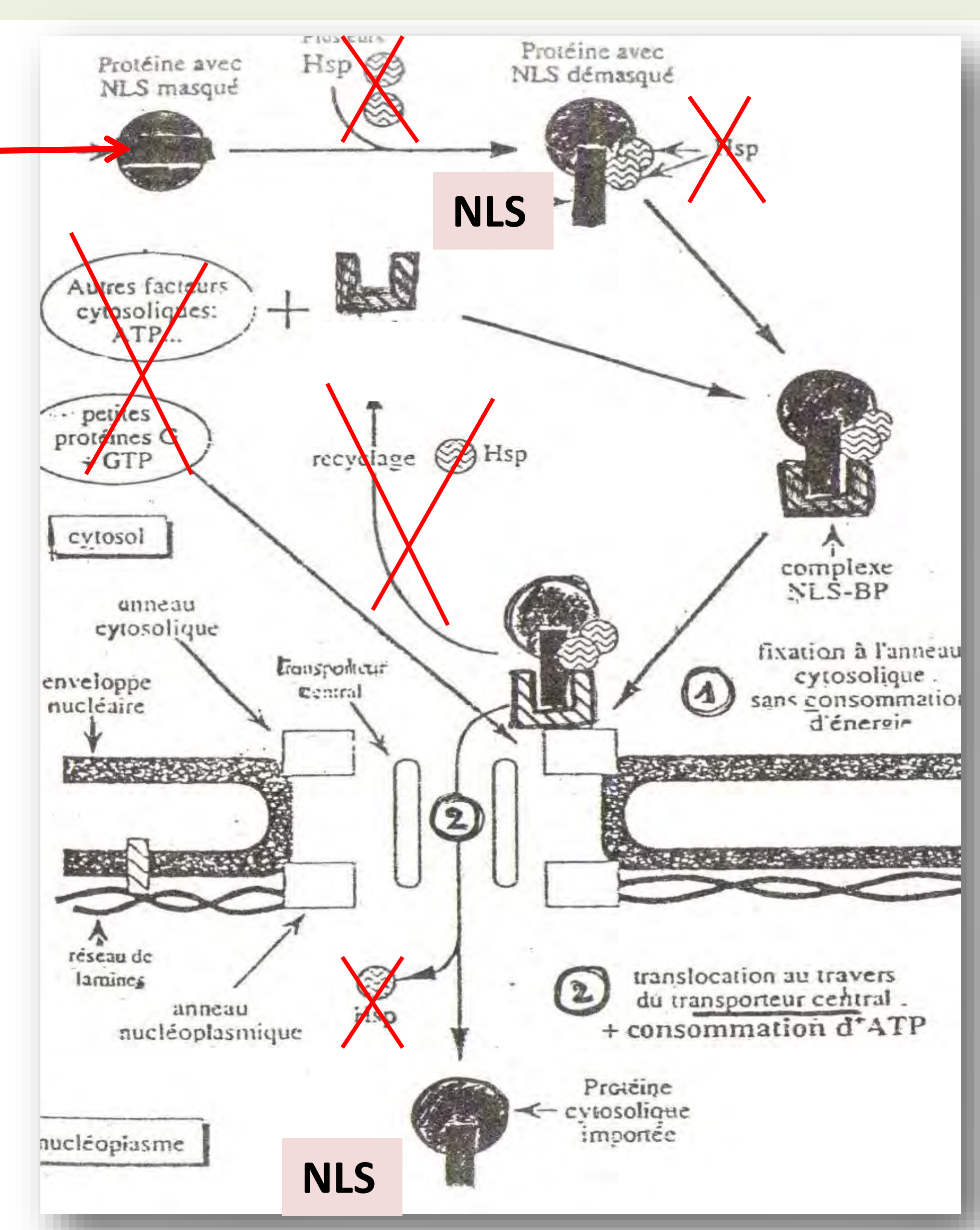
Canaux latéraux

Canaux centraux

MECANISME MOLECULAIRE D'IMPORTATION AU TRAVERS DU CANAL CENTRAL. Cas des PROTÉINES

Exemples de molécules importées à travers le canal central : protéines , enzymes nucléaires de la réplication /transcription

1. Dans le hyaloplasme a lieu une activation de la NLS liée à la protéine d'importation
2. Interaction de la NLS avec Importine /Protéine Bp
3. Formation d'un complexe NLS-Bp et interaction à l'anneau cytosolique sans consommation d'ATP ; recyclage de la Bp
4. Passage au travers du canal central avec consommation d'énergie (ATP)
5. Libération de la protéine dans le nucléoplasme

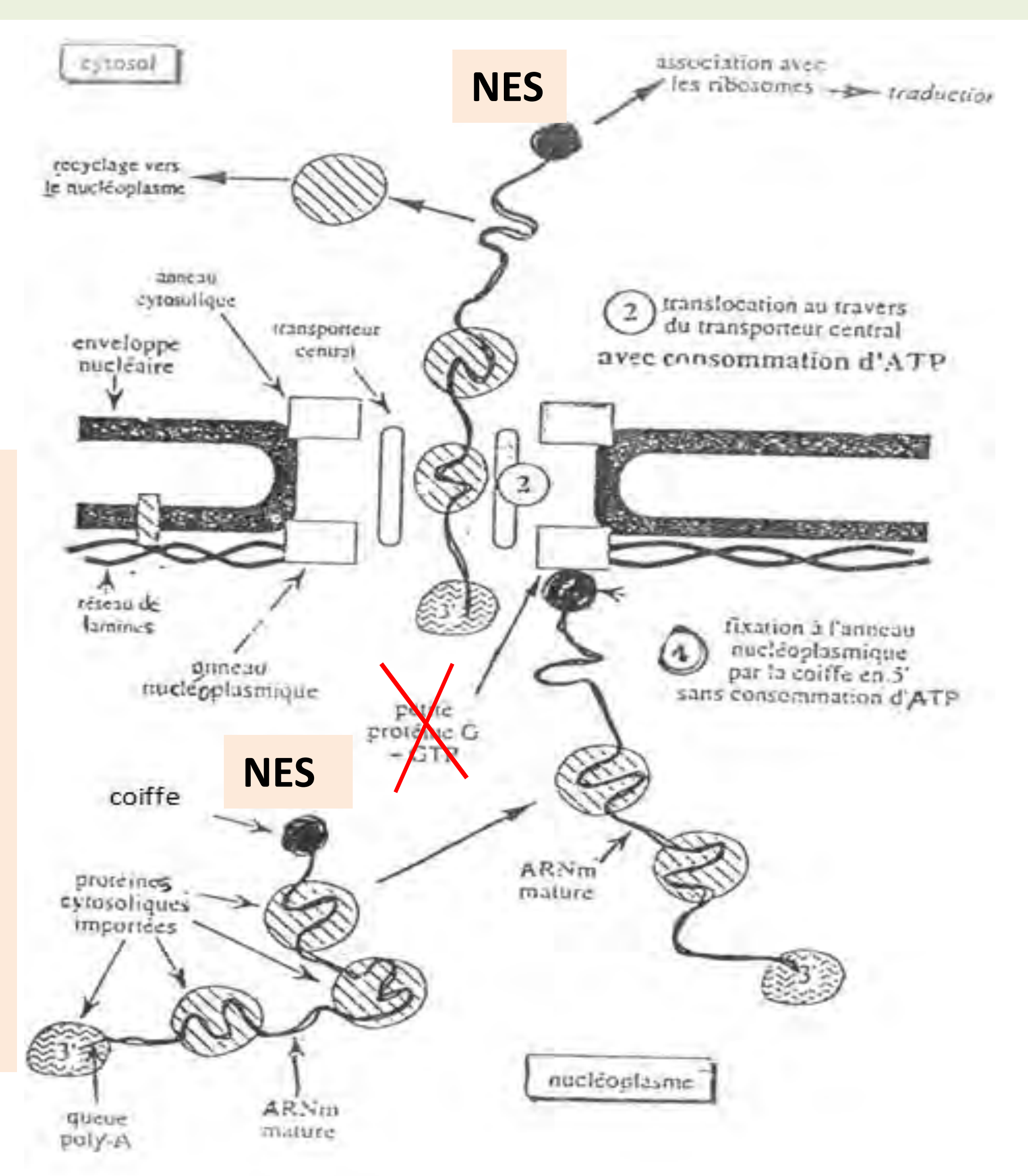


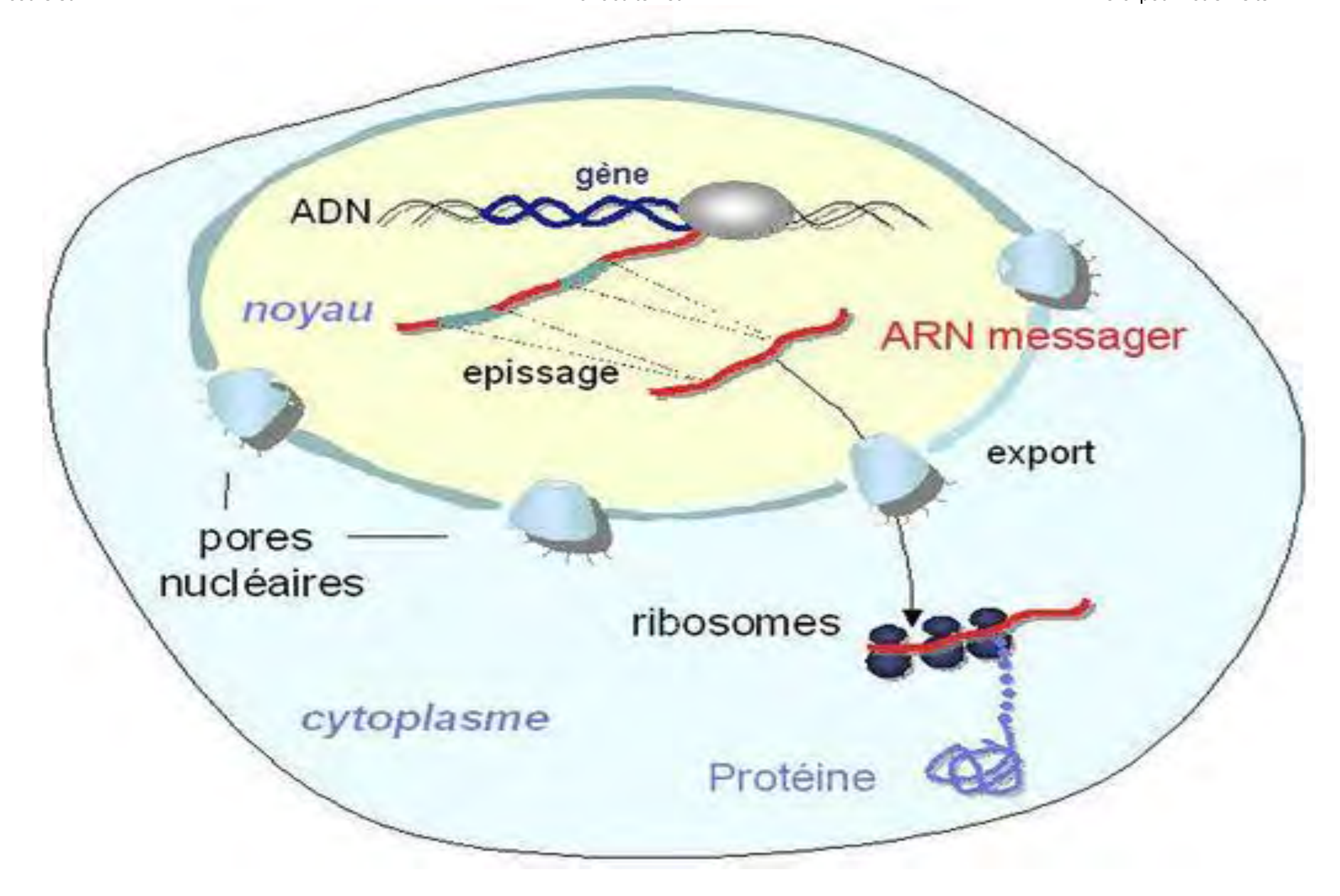
NB: Ne pas retenir les légendes barrées

MECANISME MOLECULAIRE D'EXPORTATION AU TRAVERS DU CANAL CENTRAL. Cas des ARNm

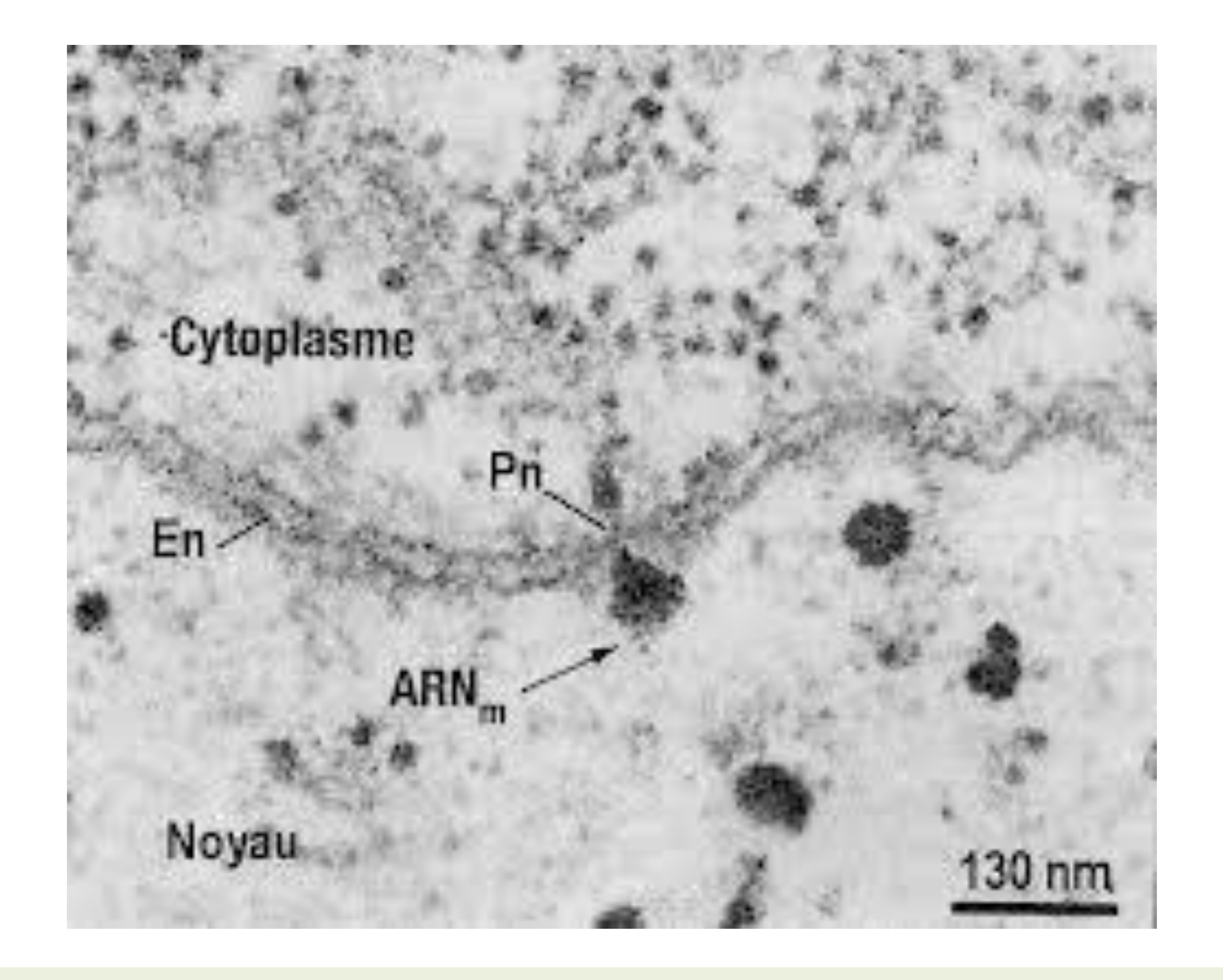
Molécules exportées à travers le canal central : différents ARN: ARNm , ARNt, ARNr, sous unités ribosomales.

1. **Dans le nucléoplasme l'ARNm porte à son extrémité 5' une séquence NES ou coiffe**
2. **Interaction de la NES avec l'anneau nucléoplasmique sans consommation d'ATP**
3. **Passage au travers du canal central avec consommation d'énergie (ATP)**
4. **Libération de l'ARNm dans le hyaloplasme**

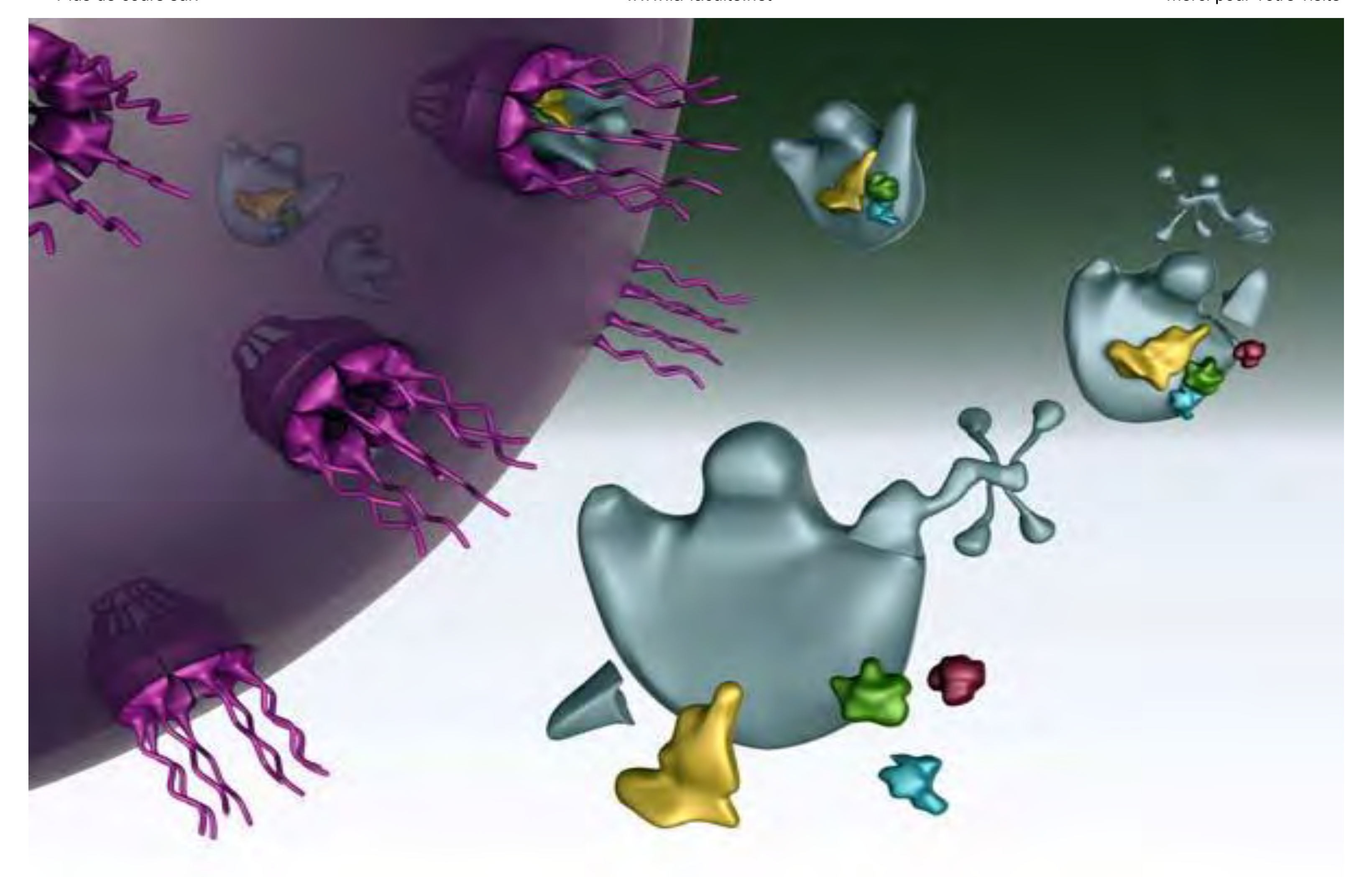




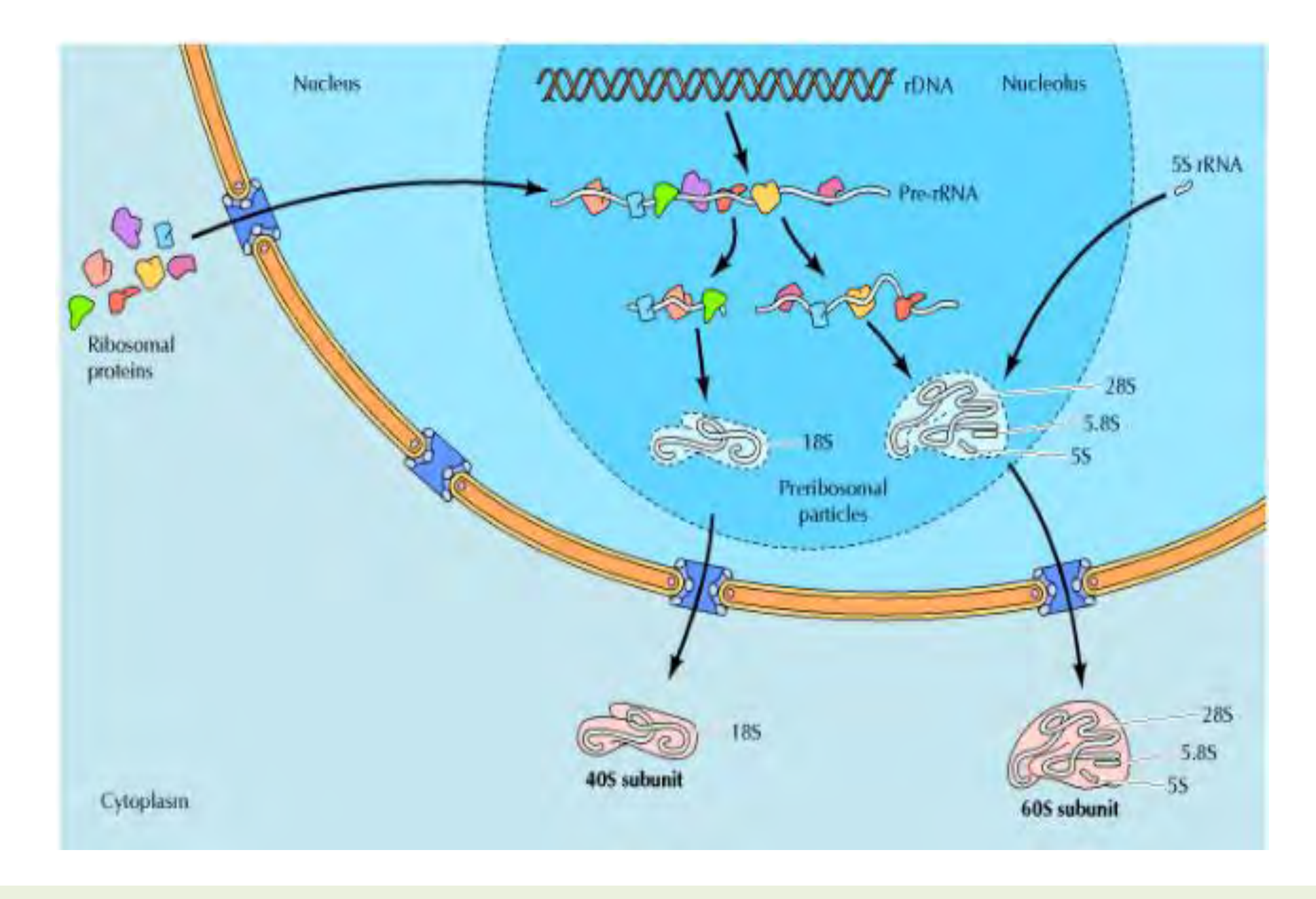
LES SYNTHESES PROTEIQUES SE DEROULENT DANS LE HYALOPLASME APRES EXPORTATION DES ARNm.



EXPORTATION D’UN ARNm A TRAVERS LE PORE NUCLEAIRE OBSERVEE AU MET.



EXPORTATIONS DES SOUS UNITÉS RIBOSOMALES ASSOCIÉES À NES (MOLECULES JAUNES) ET AUTRES PROTÉINES ASSOCIÉES (MOLECULES ROUGE,VERT,BLEU) .



EXEMPLE D'UN ECHANGE BIDIRECTIONNEL NUCLEAIRE:
importation de protéines ribosomales et exportation des sous unités ribosomales.

1.4 Biogénèse de l’enveloppe nucléaire

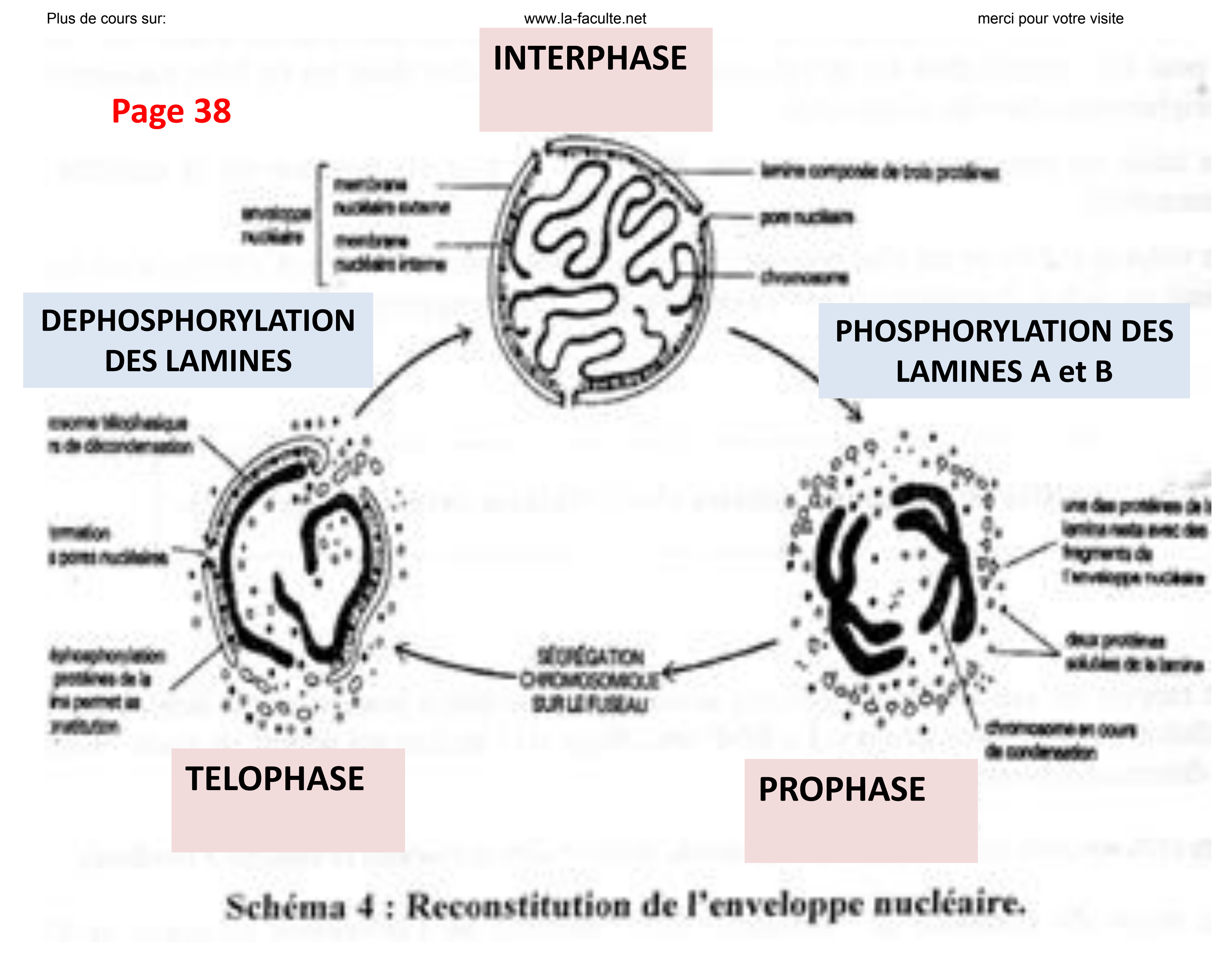


Schéma 4 : Reconstitution de l'enveloppe nucléaire.

ETAPES DE LA BIOGÉNÈSE DE l’EN

1. **A la prophase d’une mitose /méiose se produit une phosphorylation des lamines A et B : l’affinité pour leur récepteur membranaire spécifique baisse ; le réseau lamina disparait.**
2. **Une fragmentation de l’EN se produit : de petites vésicules associées aux lamines C se dispersent dans le hyaloplasme. Les lamines A et B restent solubles.**
3. **A la télophase une déphosphorylation des lamines A et B a lieu: les vésicules fusionnent entre elles**
4. **A la fin de la télophase l’EN ainsi que la lamina se reconstituent.**

2. LA MATRICE NUCLÉAIRE ET LE NUCLÉOPLASME

DEFINITIONS /COMPOSITIONS CHIMIQUES/ROLES

Le nucléoplasme correspond au milieu intranucléaire riche en eau, ions (Na^{+},$Ca^{++}$$Mg^{++}$,$K^{++}$…)

La matrice nucléaire ou nucléosquelette correspond à :

- **un réseau granulo-fibreux composé de protéines fibreuses de type NuMa (FI). Il sert de support à toutes les réactions métaboliques de l'ADN (transcription / réplication),**
- **un réseau sous-membranaire composé de lamines de types A,B,C (FI). Il intervient dans la disparition et reconstitution de l'EN à chaque cycle cellulaire.**

3. LA CHROMATINE

3.1 Techniques d'étude

3.2 Ultrastructure

3.3 Composition chimique et organisation moléculaire

3.4 Rôles

3.5 Biogénèse

3.1 TECHNIQUES D'ETUDE (de gauche à droite)

1. T. coupes minces et observation au MET
2. T. d'autoradiographie
3. T. coloration négative et observation au MET
4. T. d'ombrage métallique et observation des chromosomes au MEB

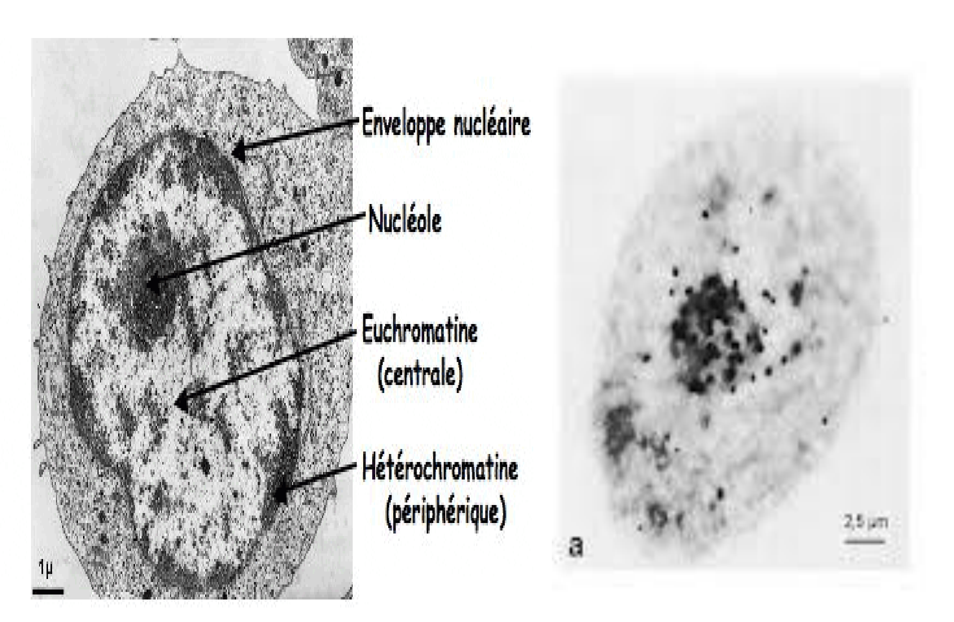




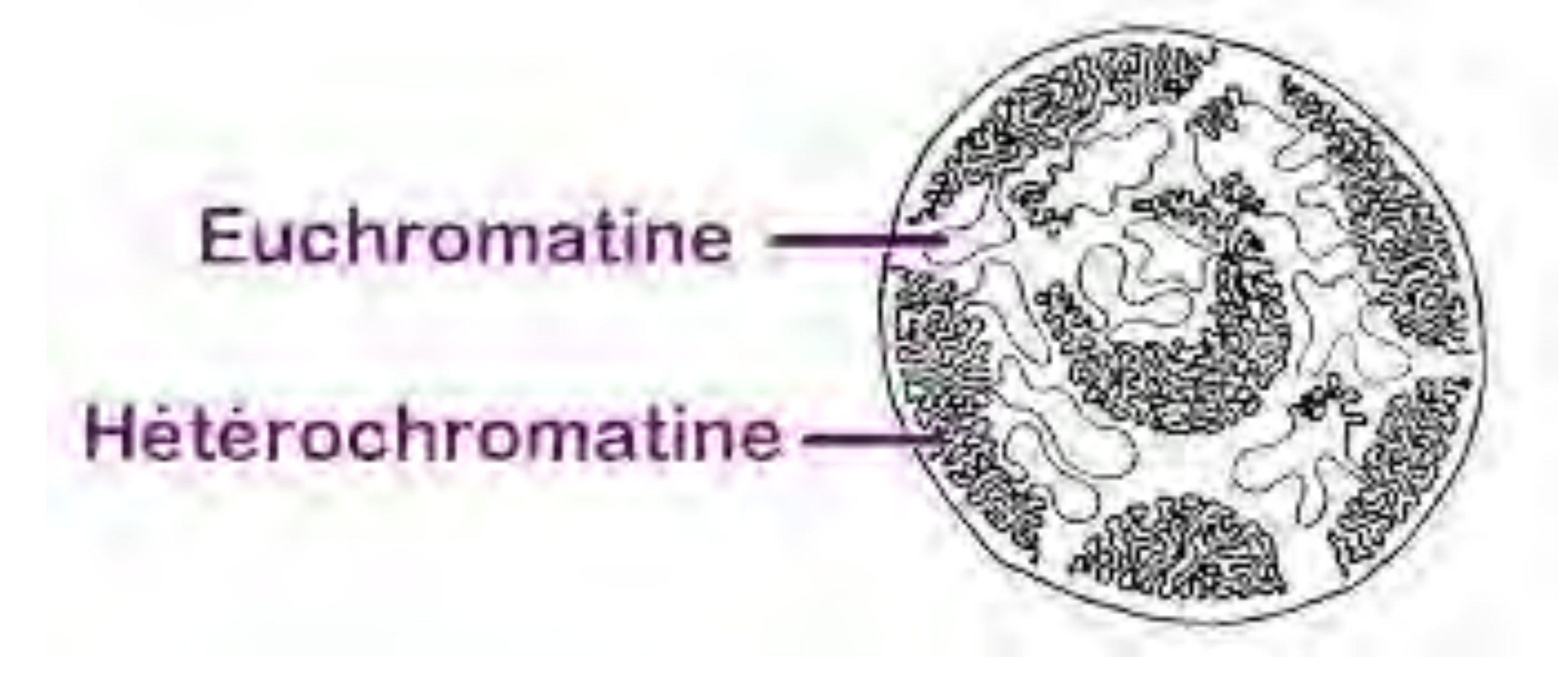


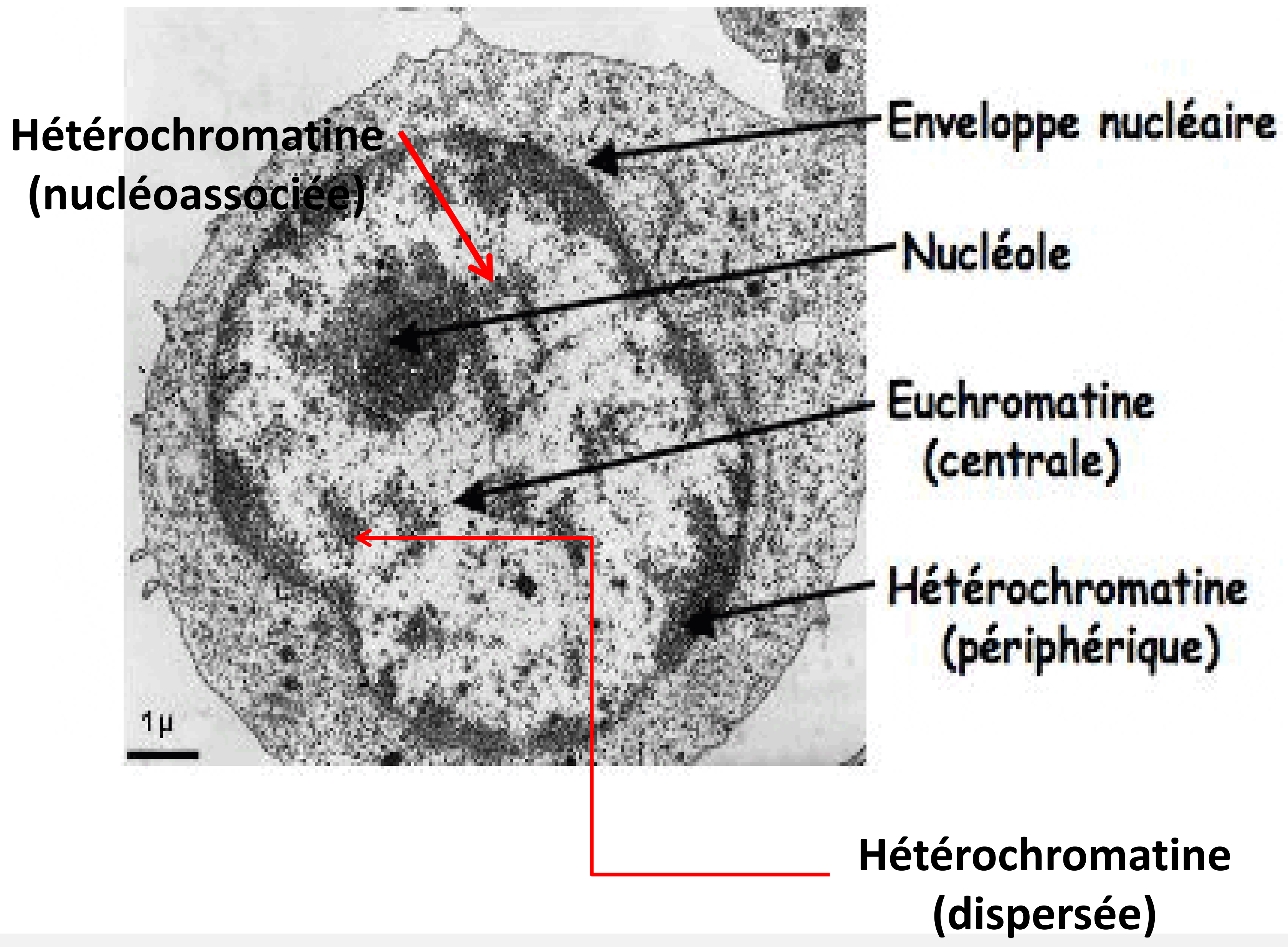
TABLEAU RESUMANT LES DIFFERENES TECHNIQUES D'ANALYSE DU CONTENU NUCLEAIRE ET LEURS SIGNIFICATIONS PHYSIOLOGIQUES

Techniques	Aspect au MET	Interprétations : Moléculaires / Activités métaboliques
Coupe mince et coloration positive	**Hétérochromatine** très dense aux e^- et abondante ds cellules peu actives. Sa répartition est comme suit : **périphérique** : au contact de la Lamina **nucléoassociée** : périphérie du nucléole **dispersée** :dans le nucléoplasme **Euchromatine** finement granulaire et peu dense aux e^- et abondante dans les cellules actives. Elle occupe le reste du nucléoplasme	**Hétérochromatine périphérique et nucléoassociée** ne sont pas transcrites ; elles constiruent l'**Hétérochromatine constitutive** **Hétérochromatine dispersée** peut être transcrite : elle est dite **facultative** **Euchromatine** : assure une **synthèse protéique intense** après transcription
Autoradiographie	**Marquage à l'uridine (précurseur de l'ARN) marqué** : marquage (grains d'argent) est localisé seulement dans **euchromatine** ⟶ **Marquage à la thymidine (précurseur de l'ADN) marquée : marquage localisé d'abord dans Euchromatine (début de phase S) puis tardivement (fin de phase S) dans l'hétérochromatine**	**Euchromatine est génétiquement active** : capable de Transcription **Euchromatine est à réplication précoce** ; **Hétérochromatine est à réplication tardive**
Coloration négative	La chromatine apparait sous forme de fibrilles d'épaisseur et d'aspect variables. Fibrilles de 10 à 11nm de Ø nommée également fibre A, en collier de perles, nucléosomique, relâchée, en zig zag Fibre de 20 à 30 nm de Ø nommée également fibre B ou épaisse	**Fibre A** : Successions de **nucléosomes** (H1+8Histones +¾ tours d'ADN) et de **liens Internucléosomiques** (ADN). **Fibre B** : correspond à une **compaction de la Fibre A (sous l'action des protéines non histones) en modèle solénoïde**
Conclusions	**La chromatine est composée de Fibre A ou Euchromatine génétiquement active capable de réplication précoce (si la cellule n'est pas différenciée) et de transcription selon les besoins cellulaires. Elle est également constituée de Fibre B ; celle-ci représente les 3 différentes hétérochromatines dont 1 génétiquement active = H. dispersée (H.facultative) et 2 génétiquement inactives = H.périphérique +H. Nucléoassociée (H. constitutive).** **H. constitutive et Facultative présentent en commun une capacité de réplication.**	

3.2 Ultrastructure

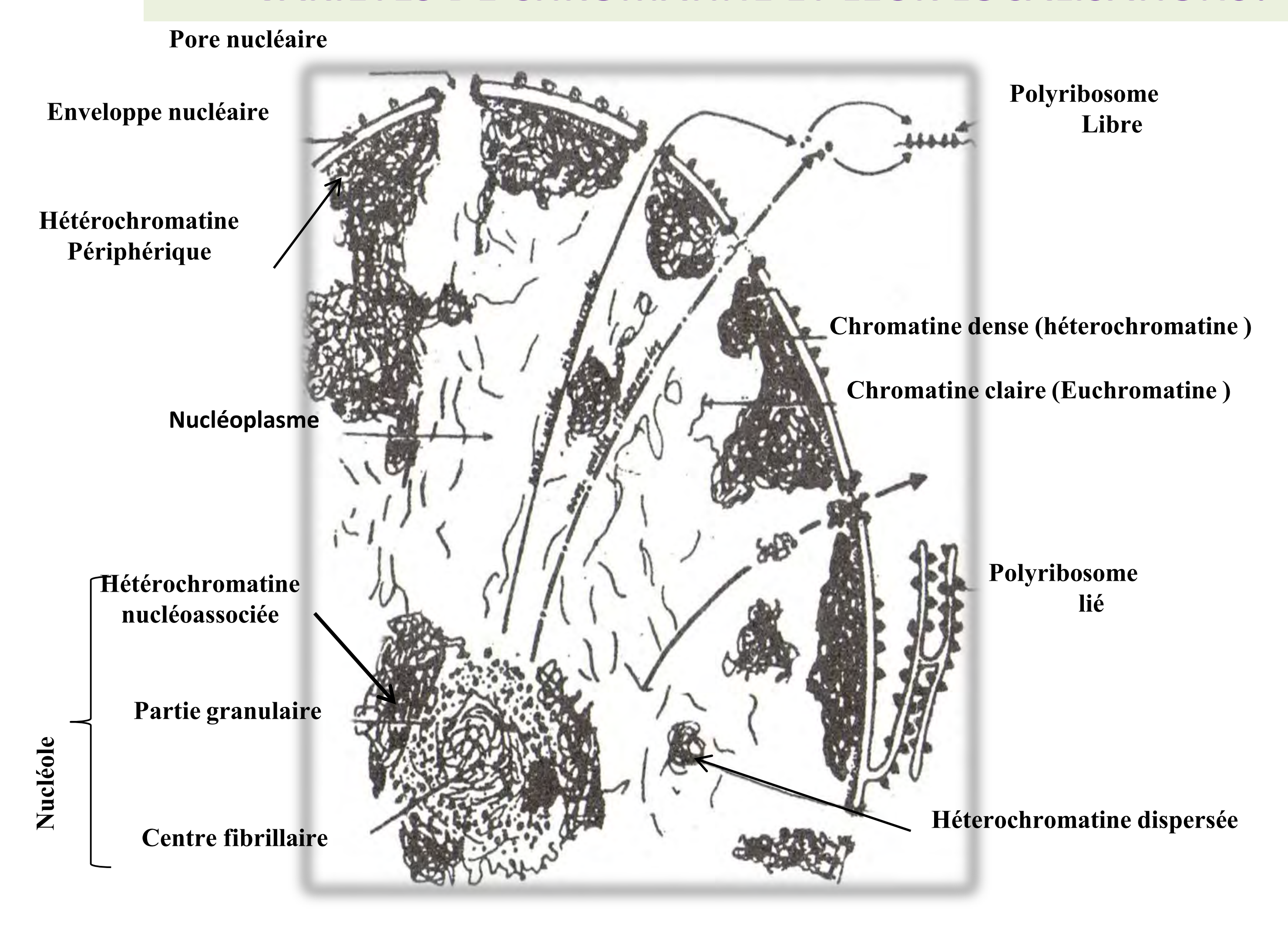
Technique d’étude de coupes minces : aspect et localisation des 2 formes de chromatine Euchromatine (claire) et Hétérochromatine (dense) aux électrons.





ASPECTS ET DISTRIBUTION DES DIFFERENTES CHROMATINES D'UN NOYAU INTERPHASIQUE OBSERVE AU (MET)

VARIETES DE CHROMATINE ET LEUR LOCALISATIONS?



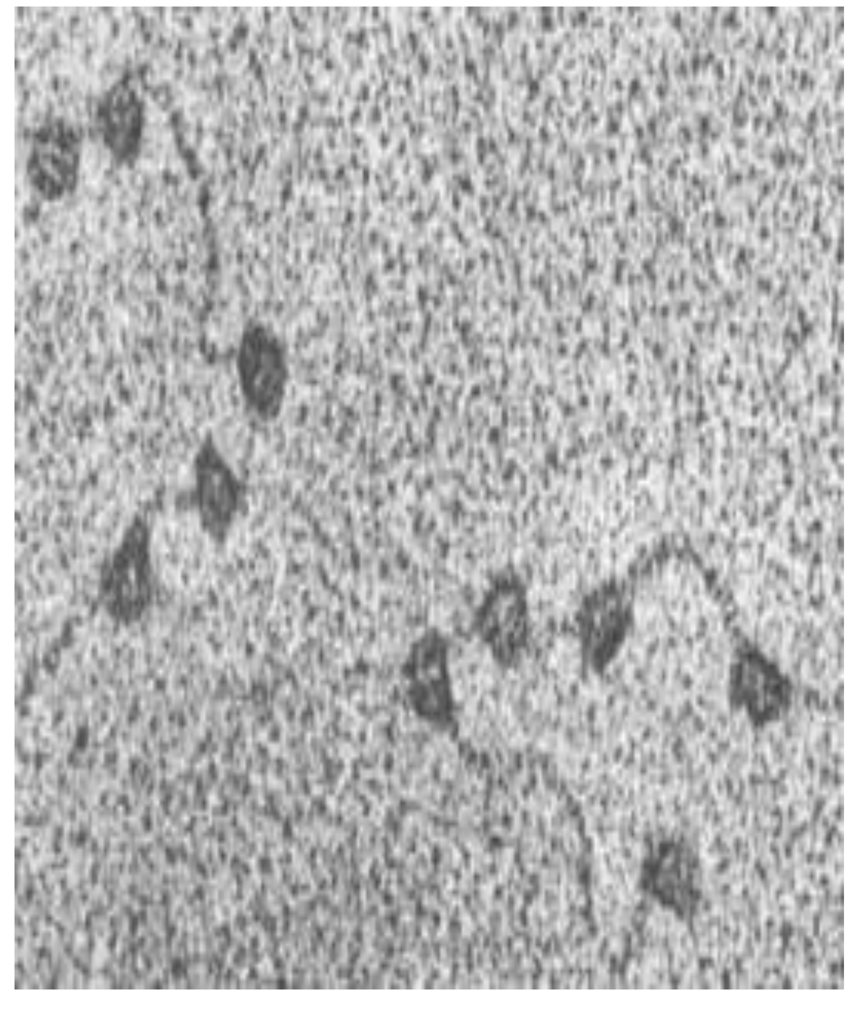
ASPECT ULTRASTRUCTURAL D'UNE PORTION D'UN NOYAU INTERPHASIQUE

TABLEAU RESUMANT LES DIFFERENES TECHNIQUES D'ANALYSE DU CONTENU NUCLEAIRE ET LEURS SIGNIFICATIONS PHYSIOLOGIQUES

TECHNIQUES	ASPECT AU MET	INTERPRÉTATIONS MOLÉCULAIRES / ACTIVITÉS MÉTABOLIQUES
Coupe mince et coloration positive	**.Hétérochromatine** très dense aux e^- et abondante dans les cellules peu actives. Sa répartition est comme suit : **.périphérique** : au contact de la Lamina **.nucléoassociée** : à la périphérie du nucléole **.dispersée** dans le nucléoplasme **Euchromatine** finement granulaire et peu dense aux e^- et abondante dans les cellules actives. Elle occupe le reste du nucléoplasme.	**Hétérochromatine périphérique et nucléoassociée** ne sont pas transcrites ; elles constituent l'**H. constitutive** **.H.dispersée** peut être transcrite : elle est dite **facultative .** **Euchromatine** assure une **synthèse protéique intense** après transcription

3.3 Composition chimique et organisation moléculaire

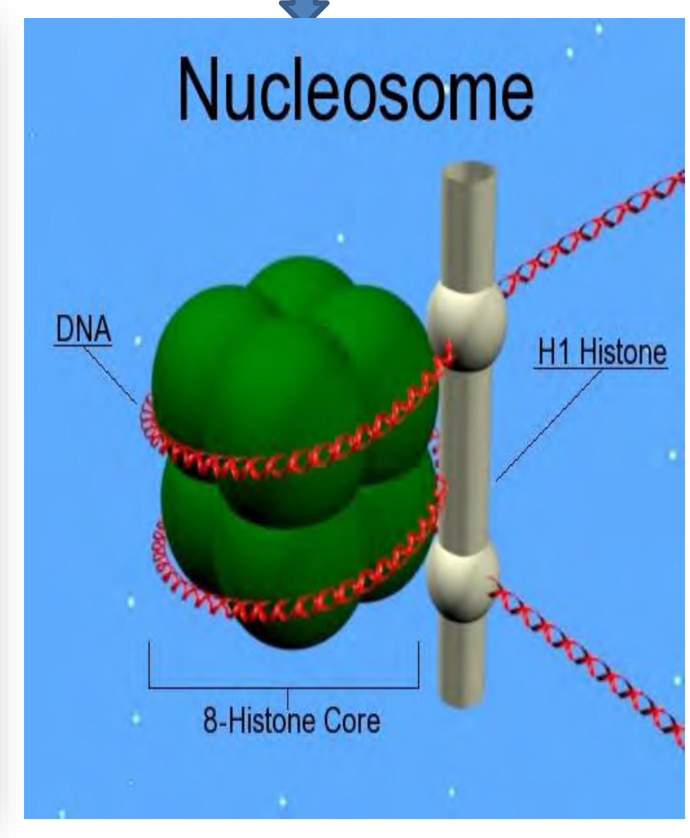
EUCHROMATINE APRES COLORATION NEGATIVE
= Fibre nucléosomique ou Fibre A



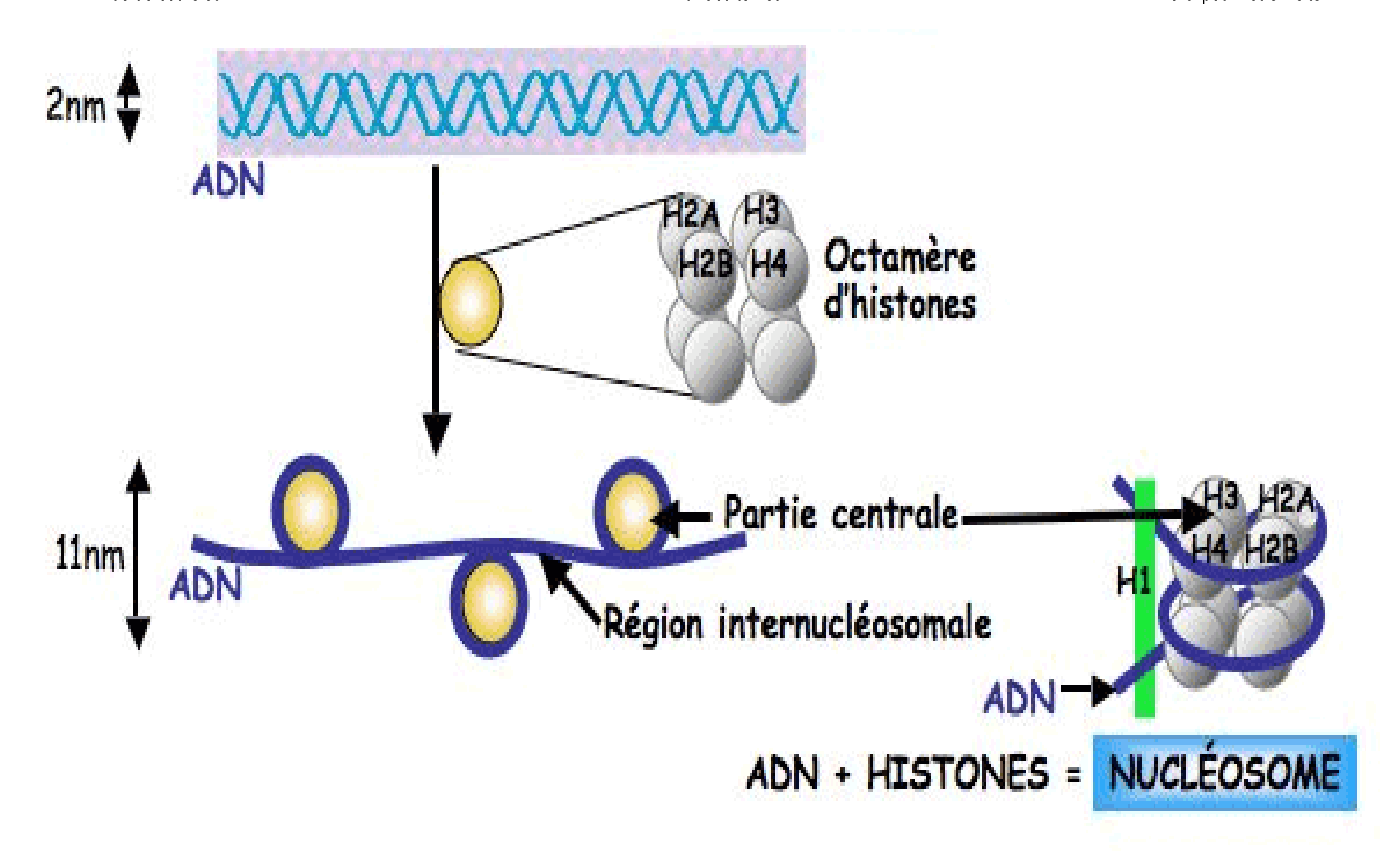
Core of eight histone molecules

Histone H1

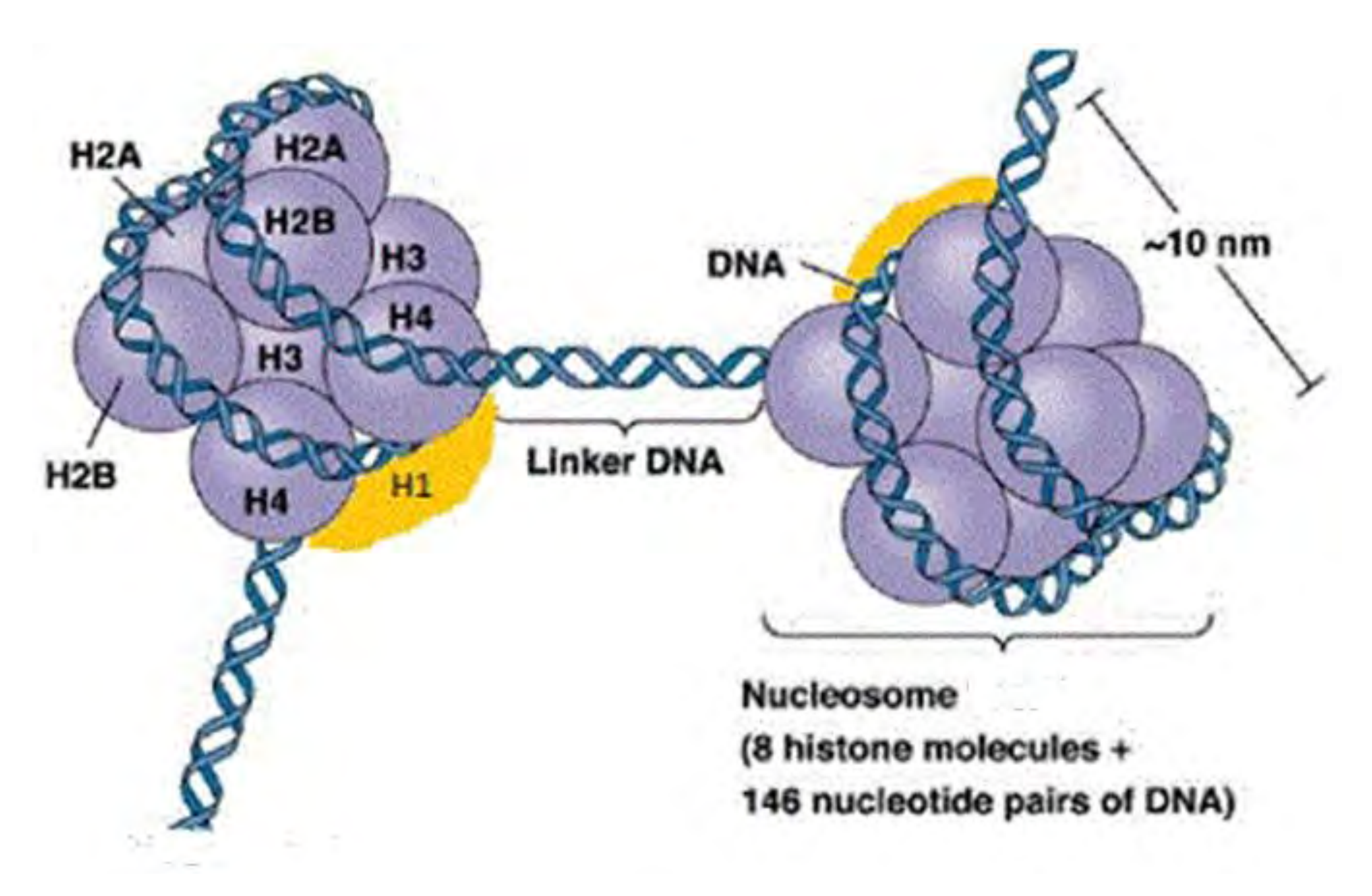
DNA



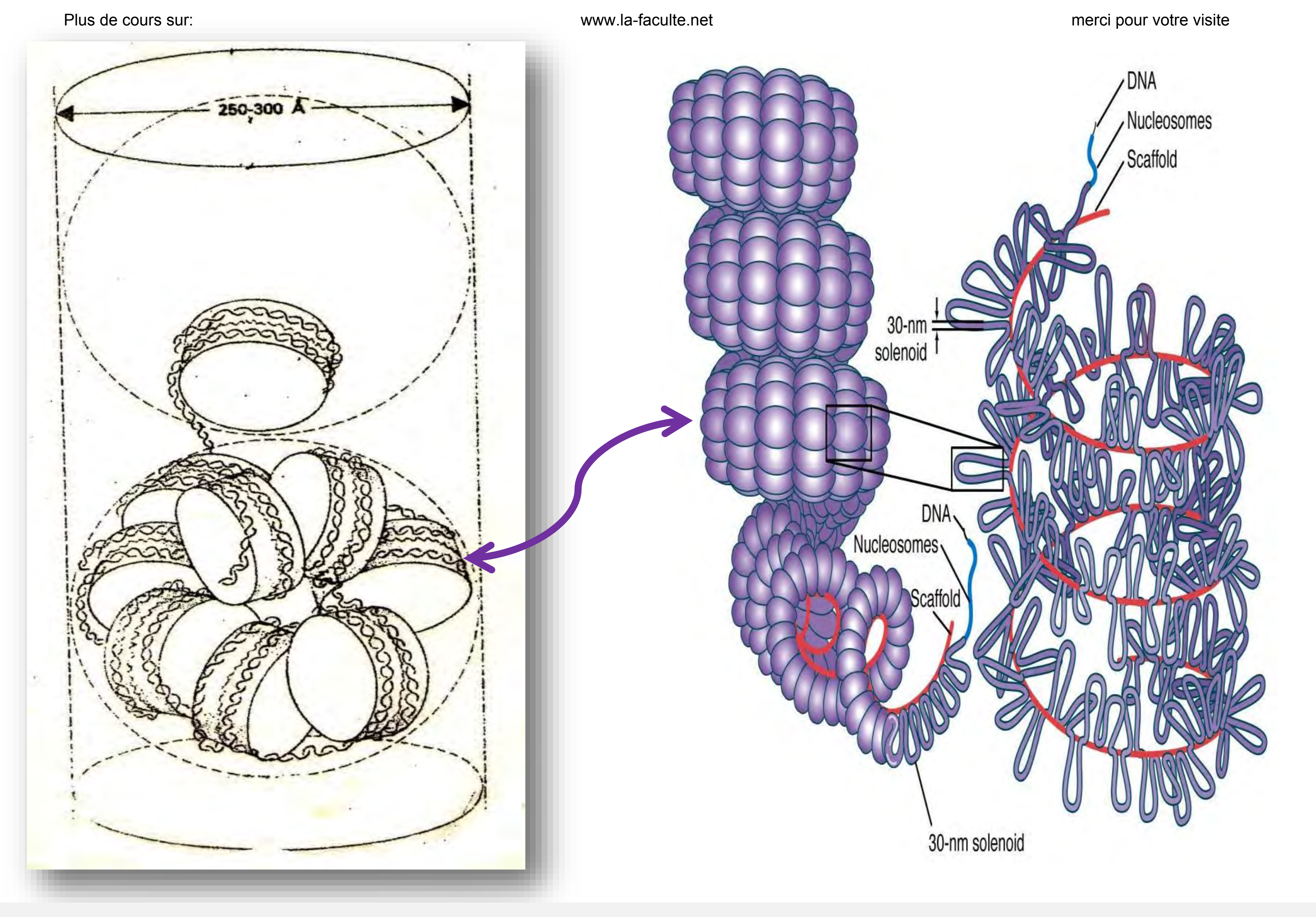
COMPOSANTS ET ORGANISATION MOLECULAIRE DE LA FIBRE A /NUCLEOSOMIQUE / CHROMATINIENNE /RELACHEE/ EN ZIG ZAG



DANS L'EUCHROMATINE S'ORGANISE LA FIBRE A DE 10 à 11nm Ø.



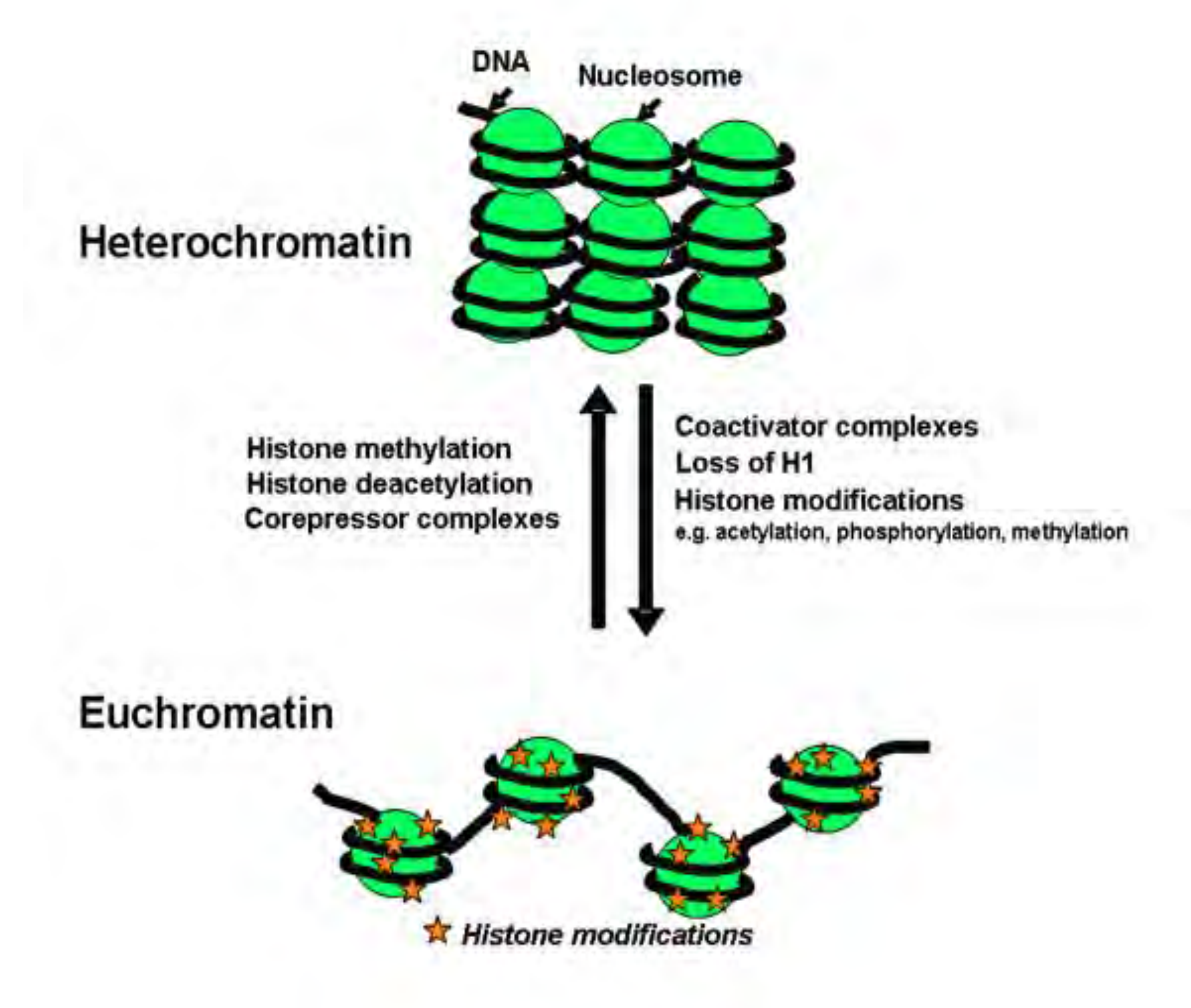
LA FIBRE A EST COMPOSE DE NUCLEOSOMES ET DE LIENS INTERNUCLEOSOMIQUES.



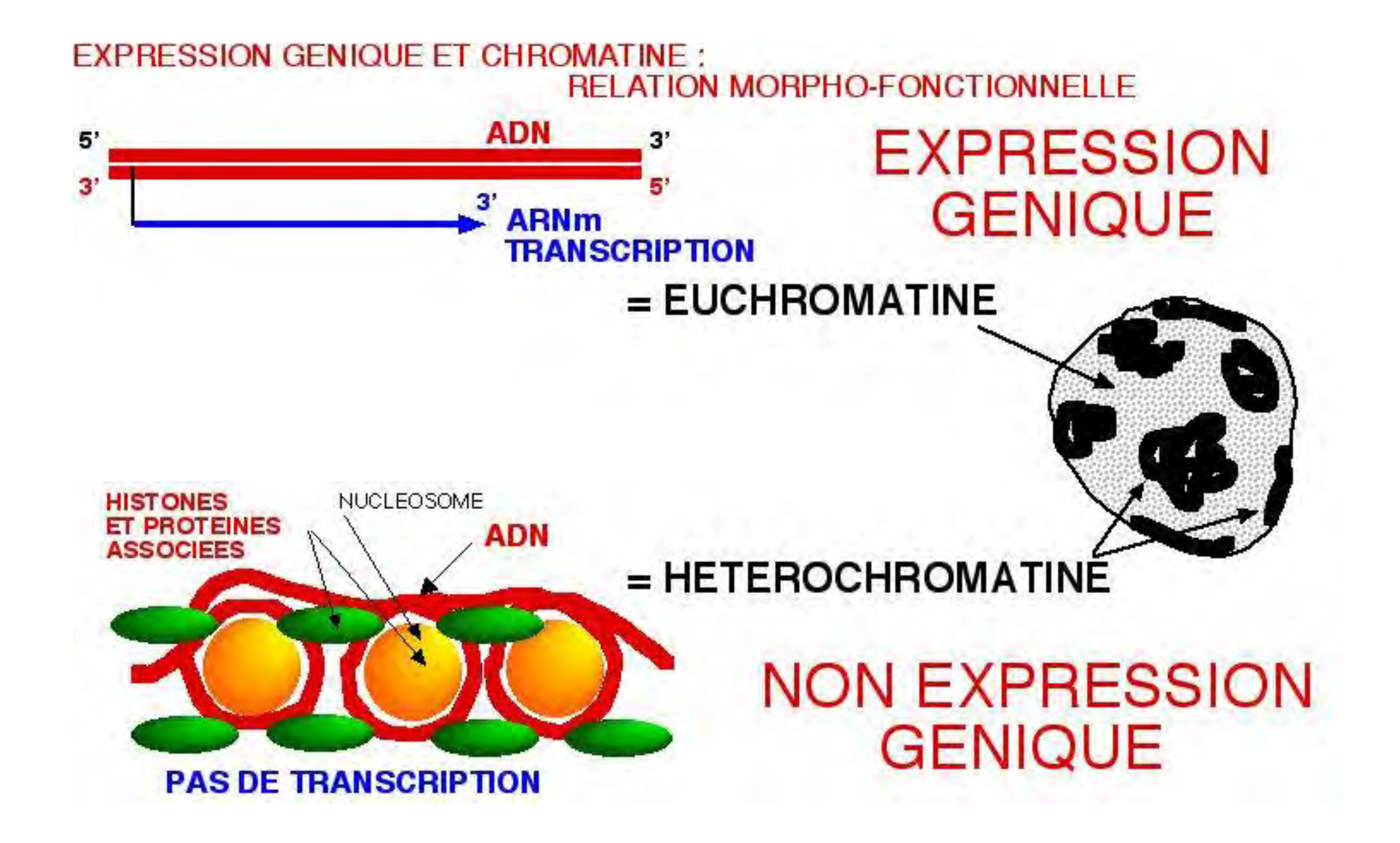
L'HETEROCHROMATINE ou Fibre B de 20 à 30 nm Ø est organisée en modèle solénoïde (ou superboules).

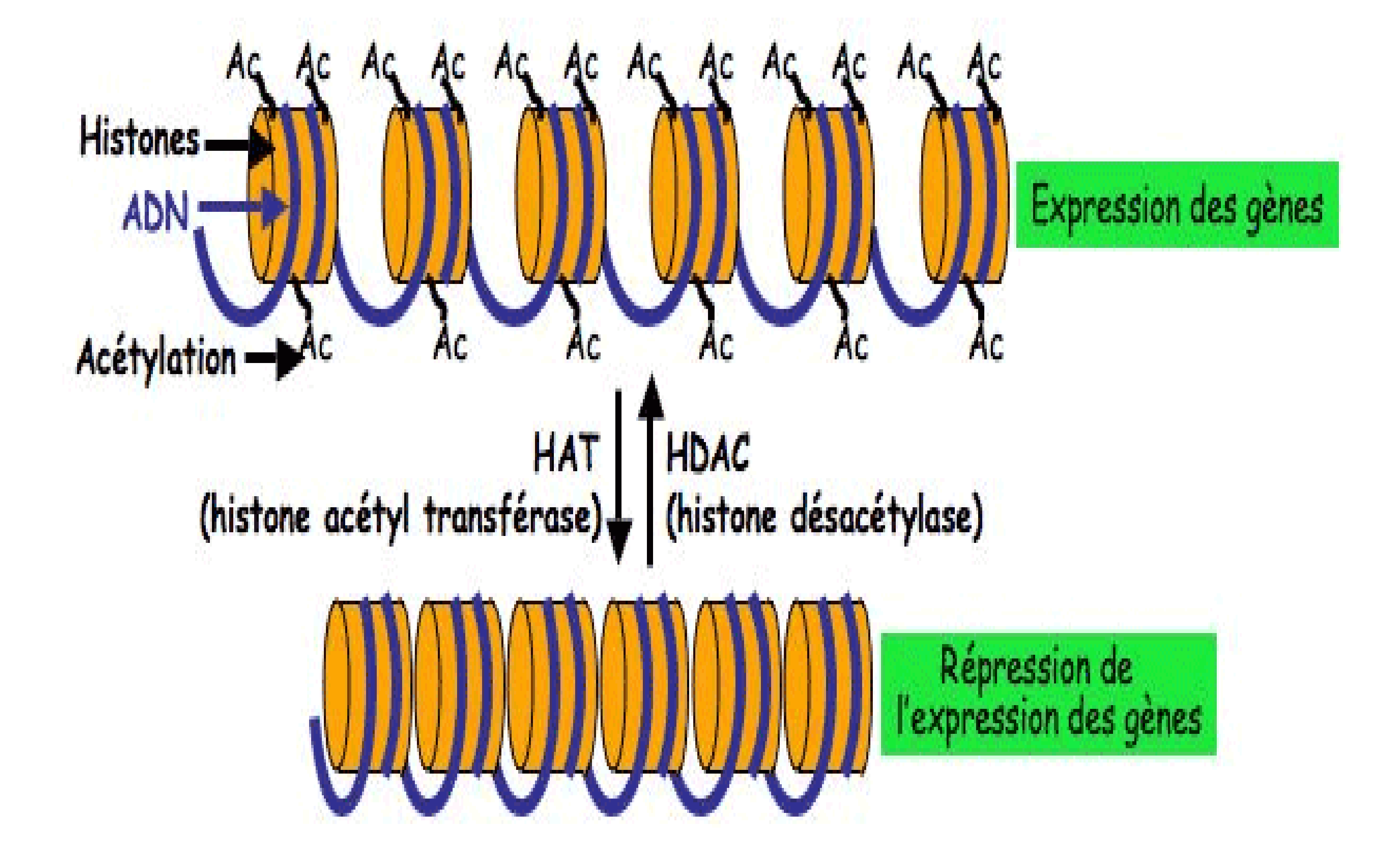
TECHNIQUE	CHAPITRE NOYAU INTERPHASIQUE ASPECT AU MET	INTERPRÉTATIONS : MOLÉCULAIRES / ACTIVITÉS MÉTABOLIQUES
Coloration négative	**La chromatine apparait sous forme de fibres d'épaisseur et d'aspect variables.** **Fibres de 10 à 11nm de Ø nommée également fibre A, en collier de perles, nucléosomique, relâchée, en zig zag.** **Fibre de 20 à 30 nm de Ø nommée également fibre B ou épaisse**	**Fibre A** : Successions de **nucléosomes** (H1+8Histones +¾ tourd'ADN) et de **liens Internucléosomiques** (ADN) **Fibre B** : correspond à une **compaction de la Fibre A (sous l'action des protéines non histones) modèle solénoïde**

Hétérochromatine et Euchromatine correspondent à des états réversibles de la chromatine.

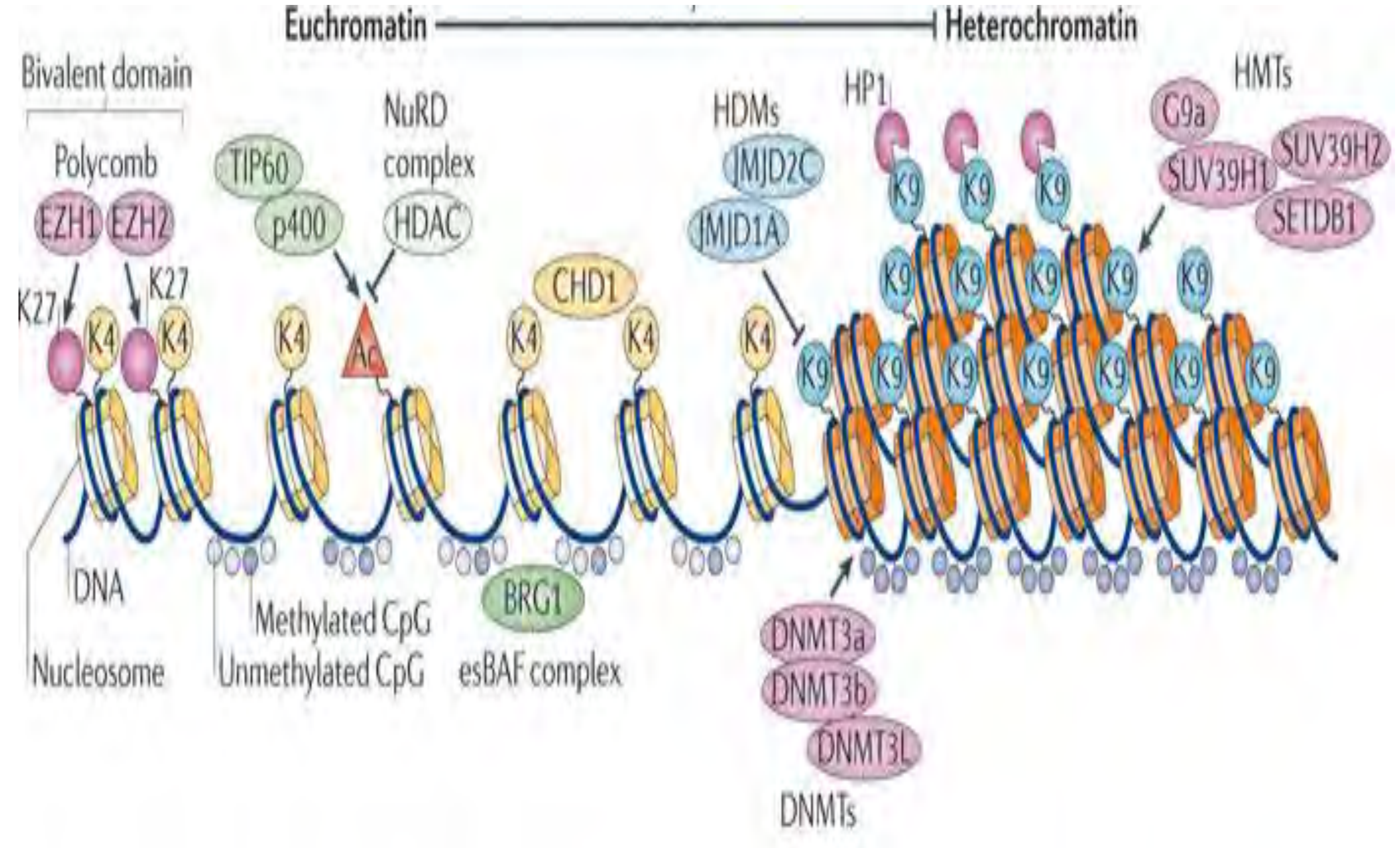


L'expression génique de la chromatine est fonction de son degré de compaction.




MODIFICATIONS EPIGENETIQUES DES HISTONES
Ac Ac Ac Ac Ac Ac Ac Ac Ac Ac Ac Ac
Histones
ADN
Acétylation
Ac Ac Ac Ac Ac Ac
Expression des gènes
HAT
(histone acétyl transférase)
HDAC
(histone désacétylase)
Répression de l'expression des gènes

A titre indicatif remarquez la variabilité en qualité et quantité des protéines associées au DNA de l'euchromatine et de l'hétérochromatine contribuant à leur organisation moléculaire respective …



3.4 Rôles de la chromatine

1. Support de l'information génétique

2. Activités métaboliques :
   - duplication (cellules indifférenciées uniquement)
   - transcription

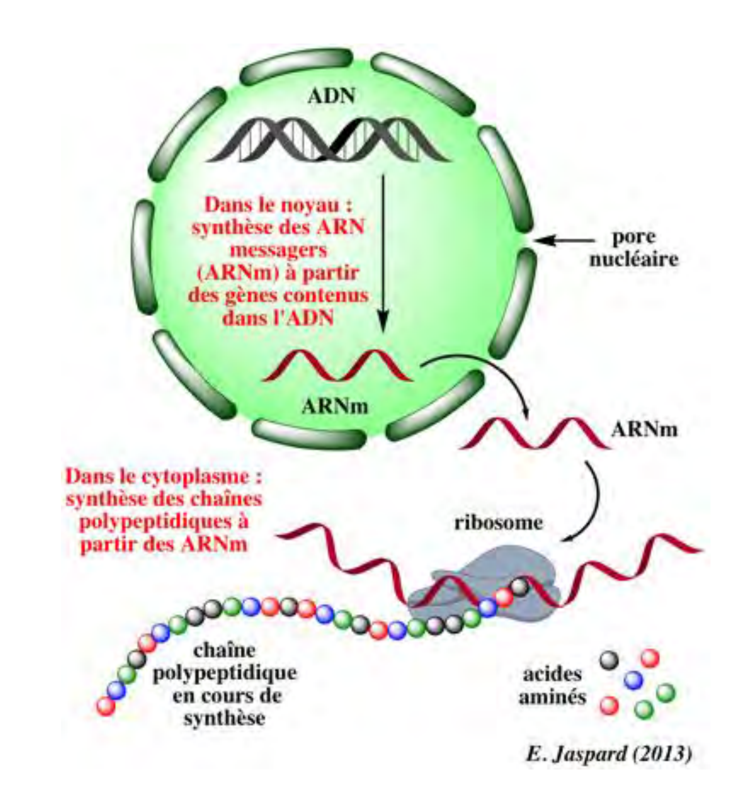
RAPPEL SUR LES ACTIVITES METABOLIQUES DE LA CHROMATINE

Cellule mitotique (indifférenciée)



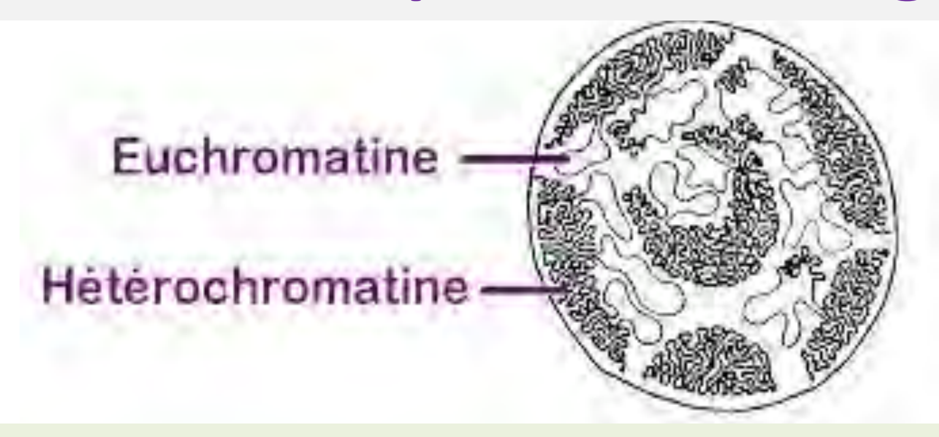
REPLICATION DE DNA

Cellules mitotique et cellules différenciées



TRANSCRIPTION DU DNA

Mise en évidence des activités métaboliques des 2 chromatines par autoradiographie



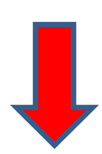
Résultats après utilisation de molécules marquées:

APRES INCORPORATION URIDINE TRITIEE



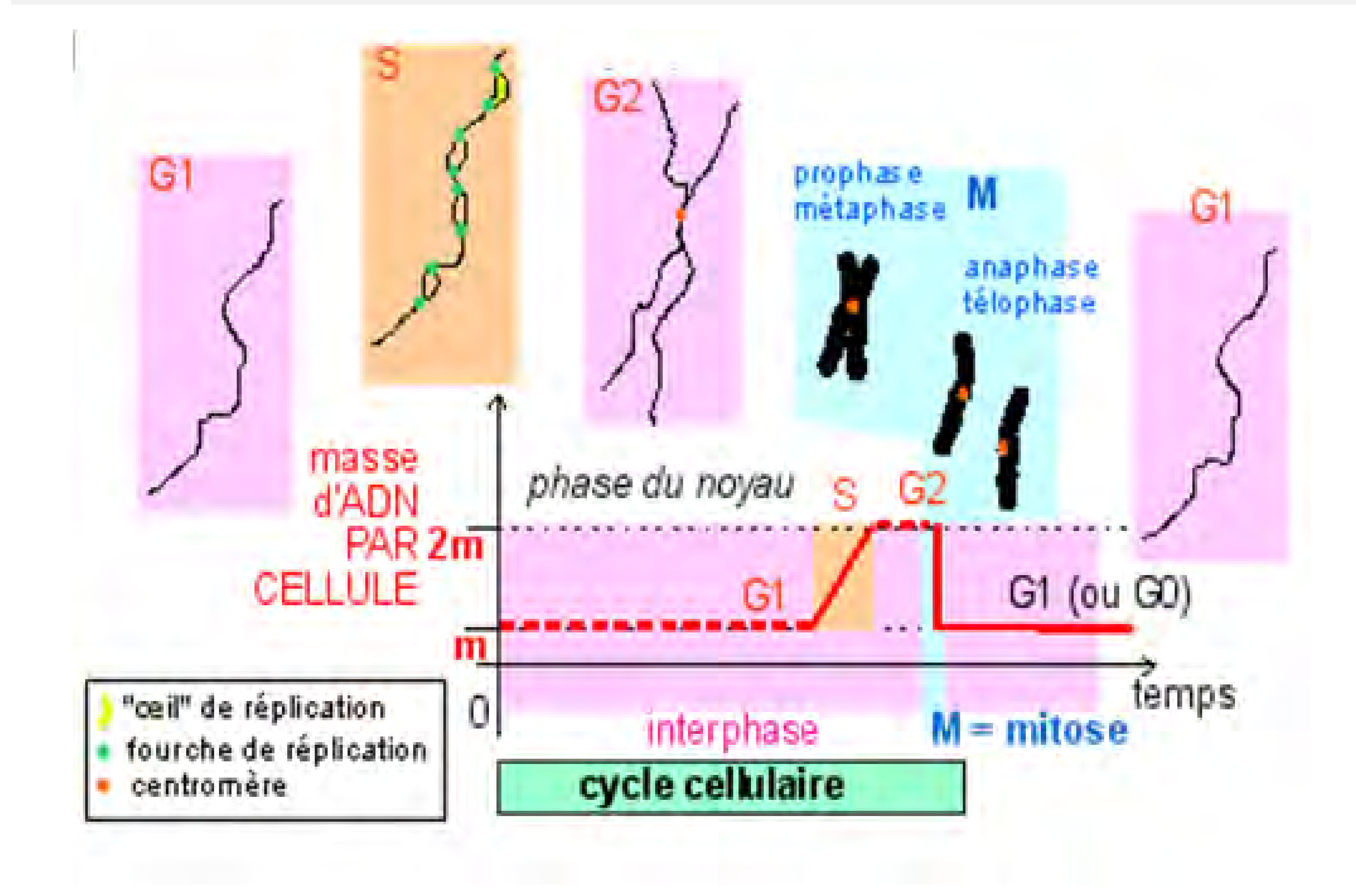
Marquage localisé dans l'Euchromatine essentiellement

APRES INCORPORATION THYMIDINE TRITIEE

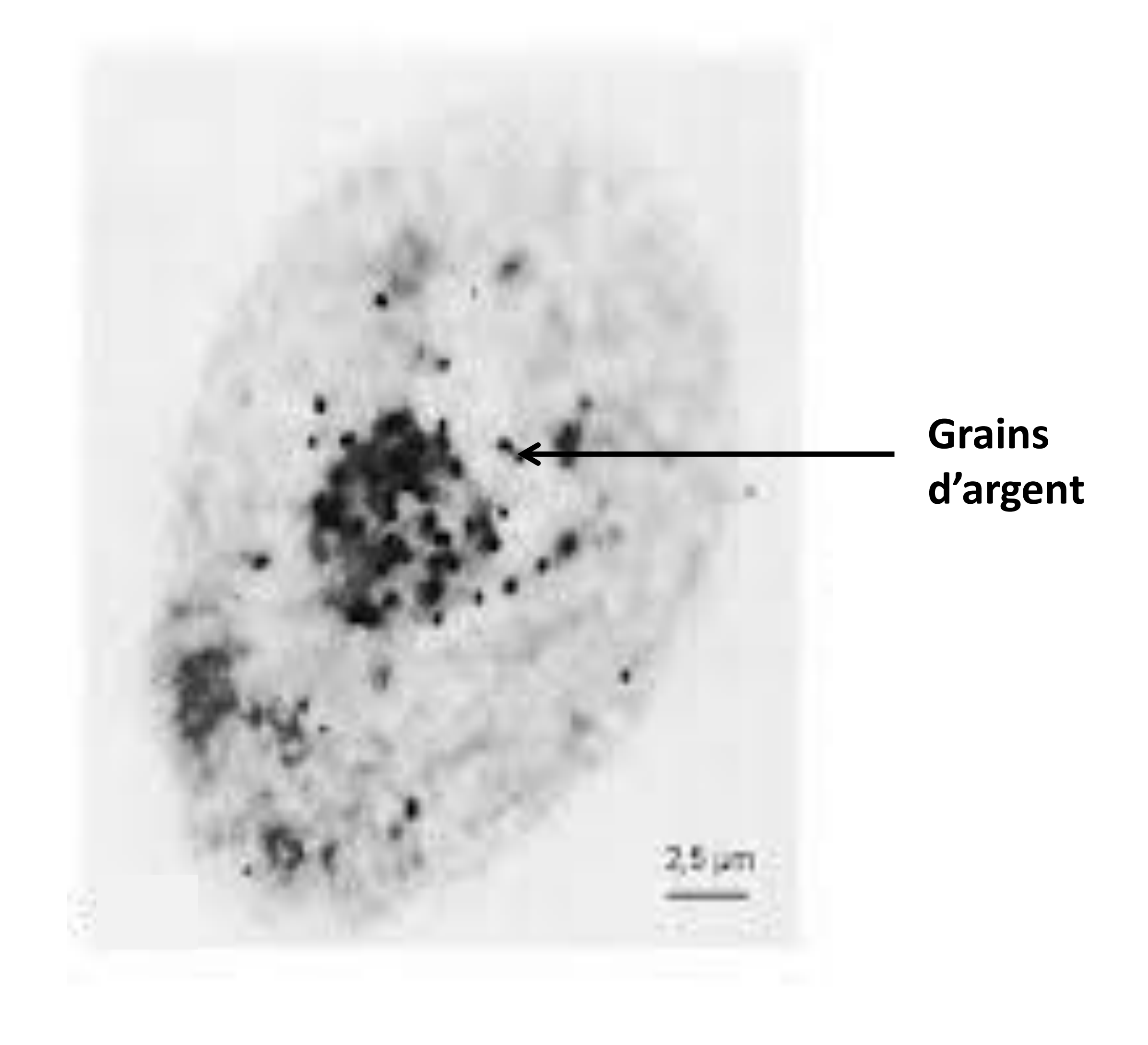


Marquage localisé dans:
1er dans Euchromatine (début S)
2eme dans hétérochromatine (fin de S)

RAPPEL : CYCLE CELLULAIRE ET ETATS DE LA CHROMATINE

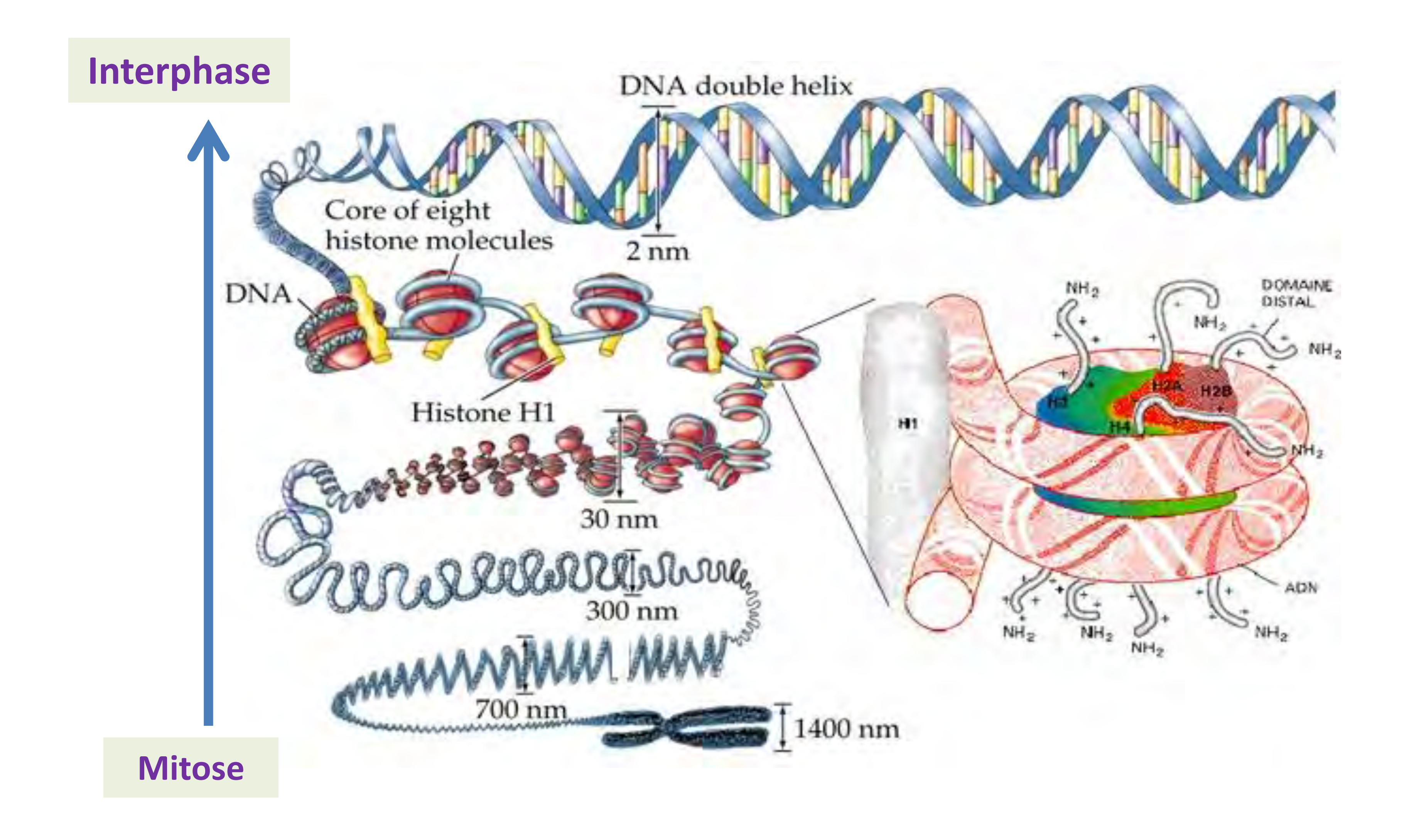


TECHNIQUE	CHAPITRE NOYAU INTERPHASIQUE ASPECT AU MET	INTERPRÉTATIONS : MOLÉCULAIRES / ACTIVITÉS MÉTABOLIQUES
Autoradio-graphie	•**Marquage à l'uridine (précurseur de l'ARN) marqué** : marquage (grains d'argent) est localisé essentiellement dans **euchromatine** •**Marquage à la thymidine (précurseur de l'ADN) marquée :** marquage localisé **d'abord dans Euchromatine (début de phase S) puis tardivement (fin de phase S) dans l'hétérochromatine.**	**Euchromatine est génétiquement active** : **capable de transcription** **Euchromatine est à réplication précoce** **Hétérochromatine est à réplication tardive**



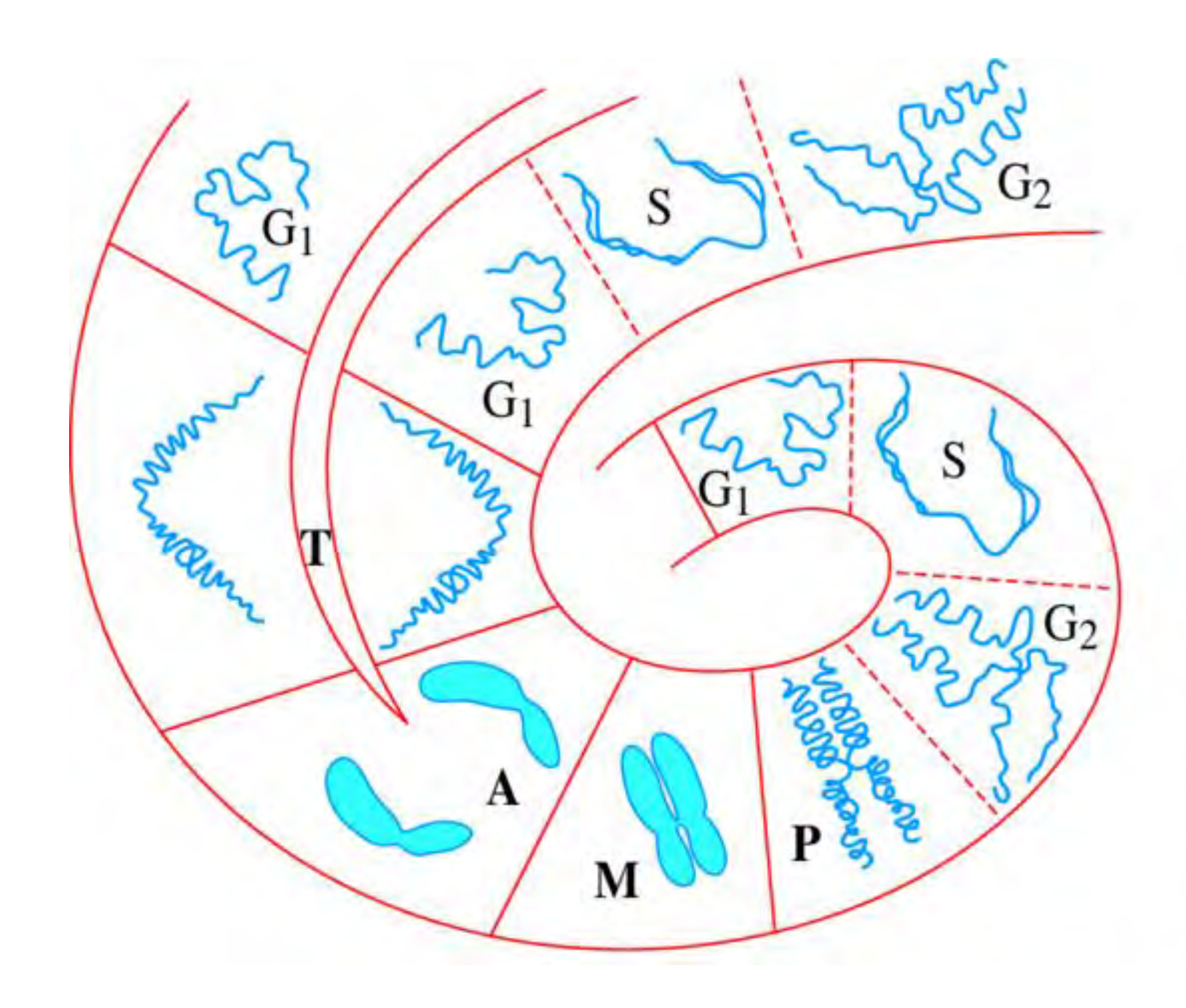
LOCALISATION DE L'ARN PAR AUTORADIOGRAPHIE

3.5 Biogénèse de la chromatine



La chromatine est la forme interphasique des chromosomes.

La réapparition de la chromatine à la télophase correspond à une décondensation maximale des chromosomes.



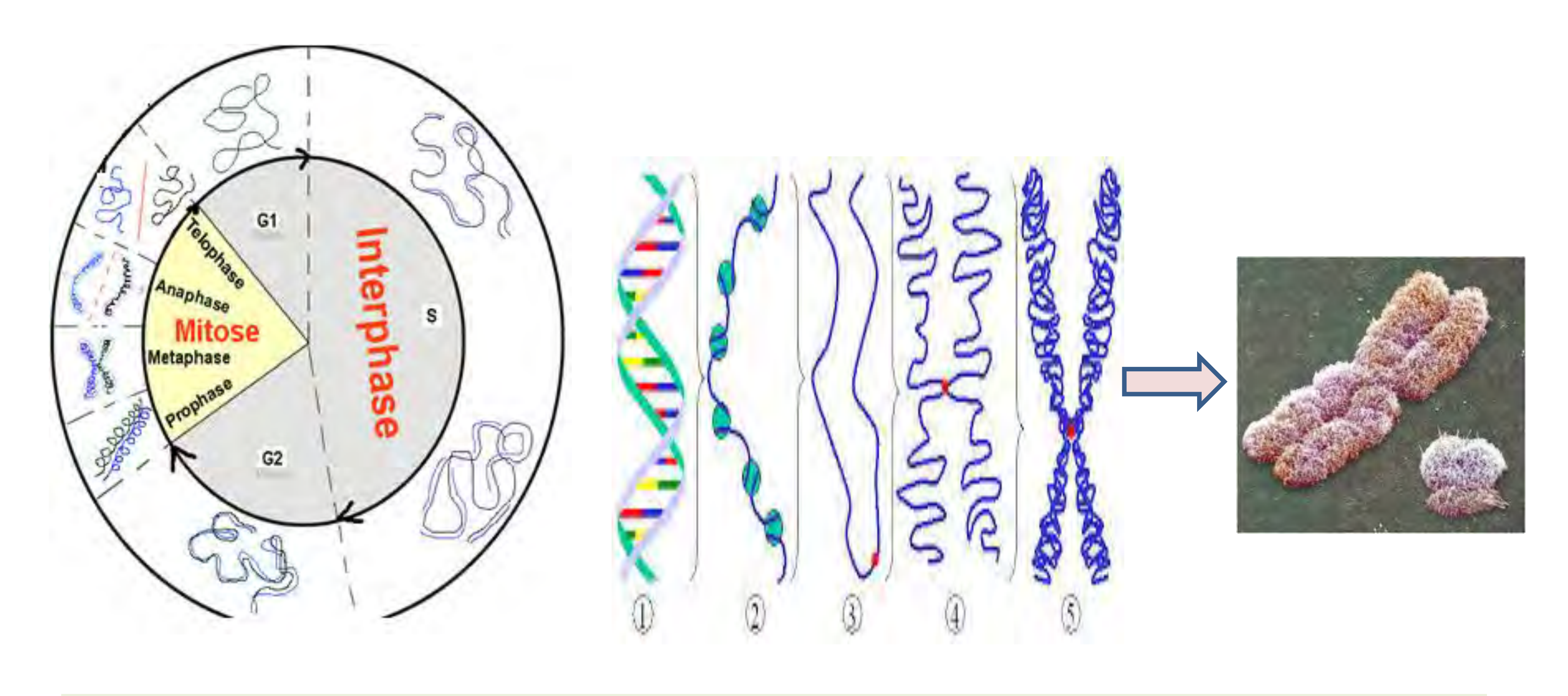
P = prophase

M = métaphase

A = anaphase

T = télophase

QU'EST CE QU'UN CHROMOSOME?



Degrés de compaction de l'ADN au cours d'un cycle mitotique suite aux interactions des protéines non histones.

UN CHROMOSOME CORRESPOND A L'ETAPE ULTIME DE LA CONDENSATION DE LA CHROMATINE A LA METAPHASE.